



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
MESTRADO EM EDUCAÇÃO FÍSICA

EFEITO AGUDO DO PARACETAMOL NA
TEMPERATURA CORPORAL, AMONEMIA E
DESEMPENHO EM CICLISTAS DURANTE EXERCÍCIO
EM AMBIENTE TERMONEUTRO

THAYSA PASSOS NERY CHAGAS

São Cristóvão

2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
MESTRADO EM EDUCAÇÃO FÍSICA

EFEITO AGUDO DO PARACETAMOL NA
TEMPERATURA CORPORAL, AMONEMIA E
DESEMPENHO EM CICLISTAS DURANTE EXERCÍCIO
EM AMBIENTE TERMONEUTRO

THAYSA PASSOS NERY CHAGAS

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Educação Física da Universidade federal
de Sergipe, como requisito parcial para
obtenção do grau de mestre em
Educação Física.

Orientador: Prof. Dr. Marcos Bezerra de Almeida

Co-orientador: Prof. Dr. Eduardo Seixas Prado

São Cristóvão

2018

THAYSA PASSOS NERY CHAGAS

EFEITO AGUDO DO PARACETAMOL NA
TEMPERATURA CORPORAL, AMONEMIA E
DESEMPENHO EM CICLISTAS DURANTE EXERCÍCIO
EM AMBIENTE TERMONEUTRO

Defesa apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Educação Física da
Universidade Federal de Sergipe como
requisito para obtenção do grau de Mestre
em Educação Física.

Aprovada em ____/____/____

Orientador: Marcos Bezerra de Almeida

1º Examinador: Silvan Silva de Araújo

2º Examinador: Josimari Melo de Andrade

PARECER

RESUMO

Introdução: Embora haja discordância, sugere-se que os antipiréticos reduzem a temperatura corporal durante o exercício físico em diferentes condições ambientais. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito agudo do paracetamol na temperatura corporal, metabolismo da amônia e desempenho após o exercício sob um ambiente com baixo estresse térmico. **Métodos:** Oito ciclistas treinados do sexo masculino, foram divididos em dois grupos: suplemento com paracetamol (PCT) e placebo (PLA), duplo-cego e crossover. Ambos os grupos realizaram uma sessão de ciclismo de 30 minutos e logo em seguida realizaram teste de exaustão (TE). A temperatura corporal e as amostras de sangue foram obtidas em repouso, durante e após o exercício. Os testes cognitivo-motores foram realizadas antes e depois da sessão de ciclismo, e o tempo de exaustão foi utilizado para avaliar o desempenho físico. **Resultados:** a temperatura corporal do PLA aumentou significativamente nos momentos 30 min e TE ($37,5 \pm 0,17^{\circ}\text{C}$ e $37,4 \pm 0,13^{\circ}\text{C}$, respectivamente), mas não no grupo PCT. As concentrações de amônia, ureia e urato no sangue não apresentaram diferença significativa entre os grupos. Observou-se um aumento significativo no lactato no momento TE em ambos os grupos. Não houve diferença significativa nos tempos de exaustão entre os grupos e nos testes cognitivo-motores após o protocolo. **Conclusão:** PCT (500 mg) atrasou a elevação da temperatura corporal durante o exercício contínuo, mas não durante o teste incremental máximo. No entanto, não foram observados efeitos no amônia plasmática e no desempenho físico ou cognitivo-motor devido ao PCT sob condições de baixo estresse térmico.

Palavras-chave: exercício, temperatura corporal, amônemia, desempenho, paracetamol.

ABSTRACT

Introduction: although there are disagree, it has been suggested that antipyretics can reduce body temperature during exercise in different environment conditions. The aim of this study was to evaluate the acute effect of paracetamol on body temperature, ammonia metabolism and performances after exercise under a low heat stress environment. Methods: eight male endurance-trained cyclists were divided into two groups: paracetamol (PCT) and placebo (PLA) supplementation, double-blind and *crossover*. Both groups performed a 30 min cycling session followed by a maximum test (TE). Body temperature and blood samples were obtained at rest, during and after exercise. Cognitive-motor tasks were performed before and after the cycling session, and the exhaustion time was used to evaluate physical performance. Results: PLA body temperature increased significantly for moments 30 min and TE (37.5 ± 0.17 °C and 37.4 ± 0.13 °C, respectively), but not in PCT group. The blood ammonia, urea and urate concentrations there was no significant difference between the groups. A significant increase in lactate was observed at the TE moment in both groups. There was no significant difference in the exhaustion times between the groups and cognitive-motor tasks after the protocol. Conclusion: PCT (500 mg) delayed the elevation of body temperature during the continuous exercise, but not during the maximal incremental test. However, no effects were observed in plasma ammonia and physical or cognitive-motor performances because of PCT under low heat stress conditions.

Key-words: exercise, body temperature, ammonia, performance, paracetamol.

SUMÁRIO

CAPÍTULO I.....	11
1. REVISÃO DE LITERATURA	11
1.1. INTRODUÇÃO	11
1.2 HIPERTERMIA COMO FATOR DE FADIGA	13
1.2.1 O QUE É HIPERTERMIA?	13
1.2.2 HIPERTERMIA NA DOENÇA E EXERCÍCIO	15
1.2.3 HIPERTERMIA E DANOS FÍSICOS E COGNITIVO-MOTOR	17
1.3 HIPERAMONEMIA COMO FATOR DE FADIGA	18
1.3.1 O QUE É AMÔNIA?	18
1.3.2 VIAS PRODUTORAS DE AMÔNIA	19
1.3.3 HIPERAMONEMIA E DANO FÍSICO E COGNITIVO-MOTOR	23
1.3.3.1 NA PATOLOGIA	23
1.3.3.2 NO EXERCÍCIO	25
1.4 FATORES POTENCIALIZADORES DA HIPERAMONEMIA NO EXERCÍCIO	26
1.5 INTERVENÇÕES PARA REDUÇÃO DA HIPERAMONEMIA NO EXERCÍCIO	28
1.5.1 INTERAÇÕES GERAIS: KAAA, GLUTAMINA E ARGININA	28
1.6 NOVA PROPOSTA DE INTERVENÇÃO PARA HIPERAMONEMIA INDUZIDA PELO EXERCÍCIO	29
1.6.1 PARACETAMOL	29
1.7 CONCLUSÕES	33
REFERÊNCIAS	34
CAPÍTULO II	41
Introduction	41
Methods	42
<i>Subjects</i>	42
<i>Experimental design</i>	43
<i>Statistical analyses</i>	45
Results	46
Discussion	55
Conclusion	57
References	58
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE).....	61

ÍNDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 1. Sequência de eventos que conduzem à elevação da temperatura corporal.

Figura 2. Metabolismo dos aminoácidos de cadeia ramificada (BCAA).

Figura 3. Vias de detoxificação da amônia da amônia no fígado.

Figura 4. Ação da glutamina sintetase.

Figura 5. Metabolismo do ácido araquidônico.

CAPÍTULO II

Figura 1. Environmental conditions (WBGT), heart rate and body temperature were similar throughout the experimental protocol.

Figura 2. Blood ammonia, urea and urate concentrations were similar throughout the experimental protocol.

Figura 3. Blood glucose and lactate concentrations were similar throughout the experimental protocol.

Figura 4. Blood CK, LDH, AST, ALT concentrations were similar throughout the experimental protocol.

Figura 5. Blood γ -GT concentrations were similar throughout the experimental protocol.

ÍNDICE DE ABREVIACÕES

ADP – adenosina monofosfato

AINEs – droga anti-inflamatória não esteróide

ATP – adenosina trifosfato

BCAA – aminoácidos de cadeia ramificada

BCAT – aminotransferase de cadeia ramificada

BCCA – cetoácidos de cadeia ramificada

CHO – carboidrato

COX – cicloxigenase

DC – débito cardíaco

DCE – doença por calor no exercício

FS – fluxo sanguíneo

GLUD – glutamato desidrogenase

GS – glutamina sintetase

EH – encefalopatia hepática

HM – hipertermia maligna

IDE – insolação desencadeada pelo esforço

IMP – inosina monofosfato

MEH – mínima encefalopatia hepática

NH₃ – amônia

NH₄⁺ – íon amônio

NSAIDs – nonsteroidal anti-inflammatory drugs

PCT – paracetamol

PGHS – prostaglandinas H sintetase

PGs – prostaglandinas

Pi – fosfato inorgânico

PLA – placebo

PVC – pressão venosa central

RE – rabdomiólise

SNC – sistema nervoso central

TC – temperatura corporal

TE – teste máximo

APRESENTAÇÃO

O exercício físico, per si, pode promover aumento na temperatura corporal, e com isso, eleva a atividade metabólica de energia, podendo exacerbar a produção de metabólitos que podem ser prejudiciais ao desempenho esportivo. Em especial, a amônia vem sendo cada vez mais estudada, pois os efeitos da sua toxicidade ainda não estão totalmente elucidados. Principalmente em concentrações elevadas, a amônia pode causar efeitos deletérios ao organismo (na doença e no exercício), principalmente relacionados ao SNC, como em casos de doença como a encefalopatia hepática.

Alta intensidade de exercício, juntamente com a elevação da temperatura corporal (estado de hipertermia), associados ou não a fatores ambientais, podem causar prejuízos ao desempenho, apresentando uma fadiga precocemente e isso pode ser em decorrência da elevação nas concentrações de amônia plasmática.

Diante dessa condição de hipertermia associada ao exercício, estudos estão sendo realizados com o intuito de reduzir os possíveis efeitos deletérios da hiperamonemia, promovendo melhora no desempenho. Utilizando substâncias (KAAA, glutamina, arginina) e medicamentos como o paracetamol.

O paracetamol (PCT) é um medicamento muito utilizado pelos seus efeitos analgésicos (alívio de dores) e antipiréticos (para redução da temperatura corporal). Na presente dissertação veremos que em estudos recentes foi sugerido que o PCT poderia melhorar o desempenho esportivo por aumentar a tolerância à dor, além de reduzir a temperatura corporal em situação de exercício e em diferentes condições ambientais, mas resultados obtidos ainda são controversos.

Com isso, papel do PCT com relação à redução da temperatura corporal ainda não está elucidado e não há estudos que tenham explorado seu efeito no metabolismo da amônia durante o exercício.

Para debater essa questão, a presente dissertação foi dividida em dois capítulos. O primeiro capítulo apresenta uma revisão de literatura, que detalha de forma aprofundada todos os tópicos que embasam a temática, buscando encontrar lacunas científicas que justifiquem a relevância do tema. No segundo capítulo é apresentado o experimento, já formatado no modelo de artigo, inclusive em língua inglesa, com o intuito de acelerar o processo de submissão do manuscrito.

CAPÍTULO I

IMPLICAÇÕES DA HIPERTERMIA E HIPERAMONEMIA PARA O DESEMPENHO NO EXERCÍCIO

1. REVISÃO DE LITERATURA

1.1. INTRODUÇÃO

A fadiga e a exaustão podem prejudicar o desempenho durante exercício físico (1). Embora muitas vezes usados como sinônimos, existem diferenças conceituais entre fadiga e exaustão (2, 3).

De acordo com Ament e Verkerke (2009) (4), fadiga é o declínio da capacidade de realizar trabalho físico (princípio fisiológico) e mental (princípio psicológico) no nível habitual de uma atividade (perturbações da homeostase). Por outro lado, para esses autores, a exaustão é caracterizada pelo declínio gradual e intenso da capacidade de realizar trabalho físico (princípio fisiológico) e mental (princípio psicológico), que acaba com a vontade de manter o movimento e obriga o sujeito a reduzir a sua carga de trabalho ou mesmo parar (falha da homeostase). Portanto, a fadiga é entendida como a progressão de processos que potencialmente podem evoluir para uma exaustão. Especificamente, a fadiga como um declínio da capacidade de realizar trabalho muscular, pode ser determinada por um componente periférico (compreende as alterações metabólicas do trabalho muscular que leva a uma resposta local atenuada) e/ou central (compreende uma falha do sistema nervoso central – SNC, em ativar os neurônios motores, ou seja, uma redução da atividade motora central) (5).

Fadiga e exaustão no desempenho físico podem ser causados por inúmeros fatores durante o exercício físico, como, por exemplo, a elevação exacerbada da temperatura corporal (hipertermia) (6). O próprio exercício físico aumenta a temperatura corporal devido à produção metabólica de calor e, em exercício de alta intensidade, pode gerar calor suficiente para elevar a

1°C na temperatura corporal em 4 min (7, 8). Visto que, onde a taxa de trabalho do exercício é intensa, a produção de calor no músculo aumenta e pode causar um aumento subsequente na temperatura corporal (9). Essa conversão da energia metabólica em energia mecânica para produzir contração muscular resulta em aproximadamente 30% a 70% da energia total sendo liberada como calor (10).

A elevada produção de calor durante o exercício físico, juntamente com a dificuldade de dissipar o calor corporal (ambiente com alto estresse térmico), pode promover hipertermia e distúrbios no SNC, que acabam limitando a capacidade de continuar o exercício com o mesmo desempenho (11). Essa hipertermia pode induzir alterações no funcionamento do SNC e promover mudanças comportamentais (confusão mental, perda de coordenação e consciência) e até mesmo a morte (3, 12). A hipertermia é uma das principais causas da fadiga e/ou exaustão quando se exercita no calor (13). Sabe-se que o controle da temperatura corporal é essencial para manter a integridade física e fornece proteção para uma eventual hipertermia e, conseqüentemente, prejuízo ao desempenho (14, 15).

Contudo, a realização de exercícios físicos que promovam a elevação da temperatura corporal, também podem causar alterações metabólicas, tal como a hiperamonemia, que induzem a uma fadiga central e/ou periférica e, conseqüentemente, podem prejudicar o desempenho (4, 16, 17). Pode-se entender que o impacto do estresse térmico no exercício físico, pode trazer prejuízos ao desempenho, provenientes de danos ao sistema termorregulatório e metabólico (18).

Assim, o objetivo dessa revisão foi fornecer uma visão geral das implicações da hipertermia e hiperamonemia para o desempenho no exercício, apresentando conceitos relacionados, tanto na doença quanto no exercício, e diferentes possíveis estratégias de intervenção para beneficiar o desempenho.

1.2 HIPERTERMIA COMO FATOR DE FADIGA

1.2.1 O QUE É HIPERTERMIA?

Embora aumentar a temperatura corporal seja considerado benéfico para o desempenho (por exemplo, o aquecimento), a adição de estresse por calor ao exercício, gerando hipertermia é visto como um fator limitante para o desempenho físico (19).

A hipertemia é a elevação da temperatura corporal de forma exacerbada, sem que os mecanismos de termorregulação consigam reduzi-la para valores considerados normais (12). Está relacionada ao armazenamento de calor que ocorre tanto por um aumento na produção de calor metabólico, quanto por uma redução na dissipação (20). Com isso, são vistos aumentos na temperatura corporal em cerca de 1-2°C a cada cinco minutos (21).

O corpo humano pode ser dividido em dois compartimentos térmicos: um compartimento central (tronco e cabeça), com temperatura regulada com precisão em torno de 37°C e um compartimento periférico (pele e extremidades) com temperatura menos controlada e inferior à temperatura central (22). O SNC é vulnerável à hipertemia. Os neurônios localizados na área pré-óptica do hipotálamo são sensíveis às mudanças de temperatura e o hipotálamo desempenha um papel importante na regulação da temperatura central (4, 23).

Mecanismos responsáveis pelo controle da termorregulação se encontram na zona anterior da região pré-óptica do hipotálamo e seus neurônios são capazes de integrar as informações entre o centro e a periferia, permitindo a seleção de respostas apropriadas para as condições térmicas internas e externas (23, 24).

Para manter a sua função normal, o corpo depende da homeostase térmica (22). E esse equilíbrio é mantido através da produção de calor corporal (derivada dos processos metabólicos e também pode ser obtida por

influência do ambiente), que deve manter essa relação entre produção e dissipação de calor funcionando na mesma proporção dentro de um intervalo fisiológico aceito e seguro (23).

Durante o exercício, ocorrem adaptações e esses ajustes resultam em um aumento controlado na temperatura central, permitindo a conclusão do exercício sem que ocorra uma alteração exacerbada (2).

Mesmo em exercício com a intensidade fixa, a produção de calor é constante e a energia produzida para a sua realização irá reduzir seus estoques, um consumo ilimitado sem reabastecimento teria efeitos deletérios, como o desenvolvimento da fadiga, evoluindo até chegar à exaustão, podendo causar danos à saúde (2). A fadiga, que pode ocorrer de forma central ou periférica, surge comprometendo a capacidade de produzir força e energia, dificultando a manutenção do ritmo e/ou da potência desejada durante o exercício (5, 16).

O desenvolvimento da fadiga durante o exercício não é causada por um único fator, mas por interações múltiplas interdependente de processos fisiológicos e sinalizações (25). Quando a fadiga é induzida por hipertermia, torna-se relevante quando o exercício é realizado em condições ambientais cuja produção de calor endógena ultrapassa a capacidade de dissipação, aumentando a temperatura de pele, que em resposta aumenta a temperatura central (16).

Dependendo da sua intensidade e da duração do exercício, pode ser criada uma sensação intensa que é preciso reduzir ou mesmo interromper o exercício, e essa sensação vem acompanhada de alterações físicas e bioquímicas (4). Sugere-se que uma temperatura corporal elevada, em decorrência da intensidade ou duração do exercício, parece já ser suficiente para ocorrer alterações no metabolismo da amônia durante o exercício (26). Sabe-se que a acumulação de amônia tem um papel significativo na fadiga (27).

Se os mecanismos de termorregulação estiverem sobrecarregados, com dificuldade em dissipar ou uma produção anormal de calor, a

temperatura central aumentará para níveis excessivos, podendo chegar ao colapso resultando em insolação (23).

1.2.2 HIPERTERMIA NA DOENÇA E EXERCÍCIO

Doença por calor no exercício (DCE) é uma desordem da produção excessiva de calor, juntamente com a dissipação de calor insuficiente e normalmente, ocorre no verão em indivíduos não aclimatados que se exercitam demais em ambientes quentes e/ou úmidos, causando um aumento perigoso na temperatura central do corpo (28). A DCE pode progredir para a insolação desencadeada pelo esforço (IDE), que inclui anormalidades do sistema nervoso central, associadas a hipertermia extrema (temperatura corporal central superior a 40°C (28), podendo causar sérios problemas a todos os sistemas do organismo, incluindo termorregulatório, renal, cardiovascular, musculoesquelético e hepático.

A IDE é uma desordem potencialmente fatal causada por temperaturas elevadas, produzido por exercício e/ou ambiente sem que o corpo consiga remover para manter a temperatura normal (23). As complicações adicionais incluem coagulação intravascular disseminada, insuficiência cardíaca congestiva (com risco de vida), além de isquemia intestinal e insuficiência renal por rabdomiólise. De fato, quando a temperatura corporal excede aproximadamente 41°C a coagulação intravascular disseminada é a causa mais comum de morte (21).

A temperatura central elevada, causada pela insolação, define uma cascata de respostas fisiológicas para preservar a homeostase e respostas fisiopatológicas que resultam em insuficiência de órgãos e tecidos (23).

Algumas doenças também estão associadas a temperaturas exacerbadas, mas são desencadeadas por diferentes mecanismos. São síndromes que apresentam um estado hipermetabólico, com alta demanda de ATP, gerando lesões musculares graves e a morte em indivíduos (28), como exemplo a rabdomiólise (RE) e a hipertermia maligna (HM).

A RE é a destruição de células musculares como resultado de lesões diretas ou indiretas com deslocamento de seus teores intracelulares no fluido extracelular, na circulação ou em ambos (28). Já a hipertermia maligna (HM), é definida como uma resposta hipermetabólica causada por agentes de inalação e raramente em humanos tem aparecido após exercício vigoroso no calor (21).

Alterações ao nível cardiovascular também são encontradas em decorrência das temperaturas exacerbadas. Deficiência na redistribuição do fluxo sanguíneo para os músculos, pele, cérebro e tracto gastrointestinal aumenta a tensão cardiovascular provocando o aparecimento da fadiga (29). Mesmo a desidratação não sendo uma causa direta da insolação desencadeada pelo esforço, quando presente, pode aumentar o colapso cardiovascular (23).

Pensando em um controle maior dessas alterações causadas pelo calor adquirido através do exercício e/ou do estresse térmico ambiental, podemos observar mudanças que podem ser compensáveis (aumento do débito cardíaco, redistribuição do fluxo sanguíneo) ou progredir para mudanças incompensáveis (redução da pressão venosa, disfunção ou insuficiência renal e hepática). Sobrecarga nas alterações termorregulatórias em níveis elevados podem ser fatais, especialmente quando ocorre coagulação intravascular (Figura 1) (23).

Indivíduos moderadamente treinados são capazes de se exercitarem até o esgotamento fisiológico voluntário e a tolerância ao calor do exercício com o estresse térmico incompensável pode ser limitada por uma temperatura interna crítica (12).

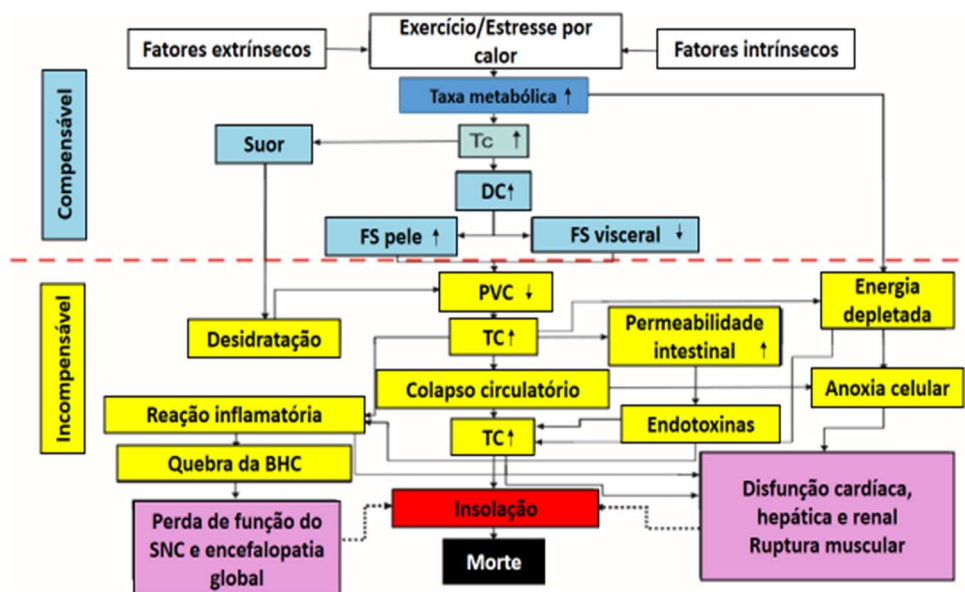


Figura 1. Sequência de eventos que conduzem à elevação da temperatura corporal. Extraído e adaptado de Epstein e Roberts, 2011 (23). TC (temperatura corporal), DC (débito cardíaco), FS (fluxo sanguíneo), PVC (pressão venosa central), SNC (sistema nervoso central).

1.2.3 HIPERTERMIA E DANOS FÍSICOS E COGNITIVO-MOTOR

O funcionamento do cérebro é afetado pela hipertermia através de alterações em seu fluxo sanguíneo e metabólicas, ocasionando redução da função cognitiva e neuromuscular, reduzindo a função muscular e alterando percepção do esforço (12). O exercício ou a contração muscular só pode ser continuada se a intensidade dos comandos corticais aumentarem, caso não ocorra, pode ocorrer queda na capacidade de produção de força no músculo ou mudanças nas propriedades sinápticas (4).

Além disso, o estresse por calor pode aumentar a temperatura corporal para níveis associados com a redução de recrutamento e/ou taxa de descarga das unidades motoras do SNC (30). Essa elevação da temperatura aumenta a tensão fisiológica no corpo e pode resultar em uma diminuição acentuada do rendimento no exercício, afetando diretamente o funcionamento do

cérebro através de alterações no fluxo sanguíneo e metabólicas provocando redução na cognição e diminuindo a função na atividade neuromuscular (12).

Exercício intenso pode causar alterações qualitativas no controle do movimento do SNC (perda de coordenação e aumento na correção de erros), com menor eficiência dos neurônios motores (4).

Indivíduos que apresentam essas alterações apresentam falha no córtex do sistema nervoso central no recrutamento muscular (em especial perda de unidades motoras de alto limiar), coordenação fraca do disparo da unidade motora, condução do estímulo atrasado, perda da coerência entre o SNC e neurônios motores, causando problemas na mobilidade articular e noções de espaço (5).

A fadiga associada a hipertermia induzida pelo exercício físico e/ou ambiente, está diretamente ligada a alterações metabólicas (produção exacerbada de metabólitos), que acentuam os prejuízos causados ao desempenho, atuando diretamente no SNC (12).

1.3 HIPERAMONEMIA COMO FATOR DE FADIGA

1.3.1 O QUE É AMÔNIA?

A amônia ($\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+$) é um subproduto do metabolismo dos compostos nitrogenados e está envolvida em várias reações metabólicas, é relevante em vários estados de doença e para a fisiologia humana normal (31). O seu metabolismo e transporte são componentes críticos dos processos biológicos em quase todos os órgãos (32). De forma dinâmica, seus níveis podem mudar de um dia para o outro ou mesmo de hora em hora, dependendo da composição de alimentos ingeridos, movimentos intestinais, exercícios e medicamentos (33).

É um metabólito tóxico, que sua concentração em altos níveis no sangue provoca distúrbios funcionais no sistema nervoso central, causando prejuízos à função cerebral, afetando a função intelectual, a personalidade, a

consciência e à coordenação neuromuscular em vários níveis, podendo levar ao coma e a morte (34, 35).

Esse metabólito pode ser encontrado em duas formas, NH_3 (amônia livre) e NH_4^+ (íons amônio). A formação do NH_4^+ depende de uma reação de equilíbrio: $\text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{NH}_4^+ + \text{OH}^-$, e não é diluído com facilidade, necessitando de um mecanismo de transporte mediados (32). Essa reação ocorre essencialmente instantaneamente e tem um pKa em condição biologicamente relevante de $\sim 9,15$; um pH 7,4; $\sim 98,3\%$ do total de amônia presente é na forma de NH_4^+ e apenas 1,7% na forma de NH_3 (36). Como a maioria dos fluidos biológicos existe a um pH substancialmente abaixo da pKa desta reação tampão, pequenas mudanças no pH causam mudanças exponenciais na concentração de NH_3 , mas não alteram substancialmente a concentração de NH_4^+ (36, 37).

1.3.2 VIAS PRODUTORAS DE AMÔNIA

O metabolismo e o transporte de amônia são componentes críticos dos processos biológicos em quase todos os órgãos, mas as maiores concentrações provêm do intestino e secundariamente do rim. O intestino é o maior consumidor de glutamina e órgão de produção de amônia no corpo (38).

Em contraste com a maioria dos solutos urinários, a amônia é produzida no rim, e a soma da amônia urinária e da amônia da venosa renal excede substancialmente a entrega de amônia arterial renal, com isso, a amoniogênese renal é central para a homeostase da amônia (36). Além disso, a amônia é um componente central da regulação renal ácido-base e sob condições normais a excreção de amônia renal compreende 50-70% da excreção líquida de ácido. Durante a acidose metabólica, os aumentos na excreção de amônia compreendem 80-90% do aumento da excreção líquida de ácido em humanos (39). A eliminação da amônia através da ligação entre rins e o trato gastrointestinal serve para manter o equilíbrio ácido-base e balanço de nitrogênio (27).

Quando a utilização do ATP durante o exercício não pode ser acompanhada pela sua ressíntese, a depleção do ATP ocorre devido a irreversível desaminação da AMP para IMP e amônia, catalisada pela enzima AMP desaminase (AMPD) (40-43). Assim, quando a hidrólise de ATP ultrapassa o abastecimento, as concentrações de ADP e AMP se tornam excessivas, facilitando o acúmulo de IMP e NH_3 (44).

Outra forma de produção de amônia é através do catabolismo das proteínas que são oriundas da dieta ou do próprio corpo. Em especial, os aminoácidos de cadeia ramificada (BCAAs) (valina, leucina e isoleucina), possuem um papel fundamental nesses processos, já que possuem forte hidrofobicidade e ao contrário dos outros aminoácidos, são metabolizados em tecidos extra-hepático. Os BCAAs são divididos por duas reações (Figura 2). Uma a partir da reação da aminotransferase de cadeia ramificada (BCAT) e a outra a partir do α -cetoácido de cadeia ramificada (BCCA). Na primeira reação, o grupamento amino derivado do BCAA é utilizado para a formação do glutamato a partir do 2-oxoglutarato. Após ser formado, esse glutamato pode ser convertido em glutamina através da glutamina sintetase, ou em alanina a partir da combinação com o piruvato (27, 45). Em alguns casos, o glutamato pode reagir com o co-fator NAD^+ via glutamato desidrogenase, uma reação que leva a formação de amônia (46).

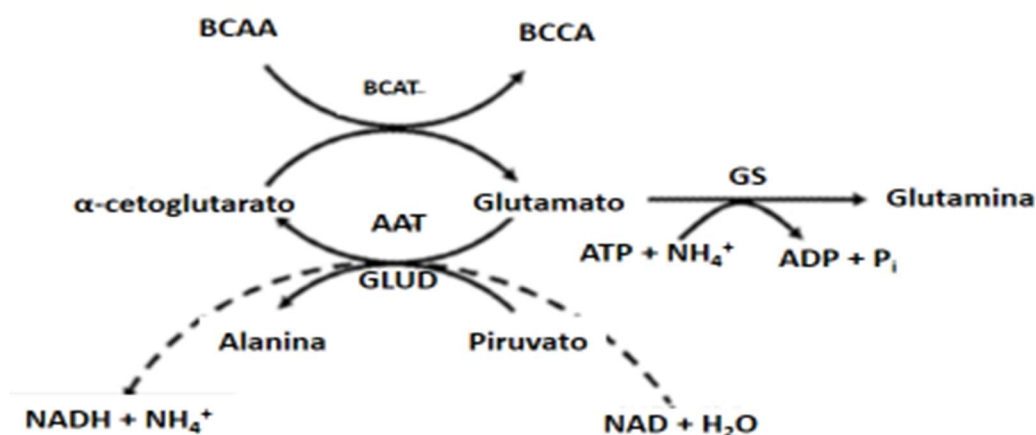


Figura 2. Metabolismo dos aminoácidos de cadeia ramificada (BCAA). Extraído e adaptado de Wilkinson (2010) (27). BCAA (aminoácido de cadeia ramificada), BCCA (cetoácidos de cadeia ramificada), BCAT (aminotransferase de cadeia ramificada), GS (glutamina sintetase), GLUD (glutamato desidrogenase).

Para evitar os efeitos deletérios da amônia, a maior parte deste metabolito é excretado através do ciclo da ureia (Figura. 3), localizado no fígado. Através da incorporação da amônia em ureia, regulando a concentração de amônia na circulação sistêmica (47). No entanto, quando o fígado falhar, a desintoxicação de amônia não ocorre adequadamente e os níveis de amônia no sangue e nos tecidos aumentam, levando a hiperamonemia (48).

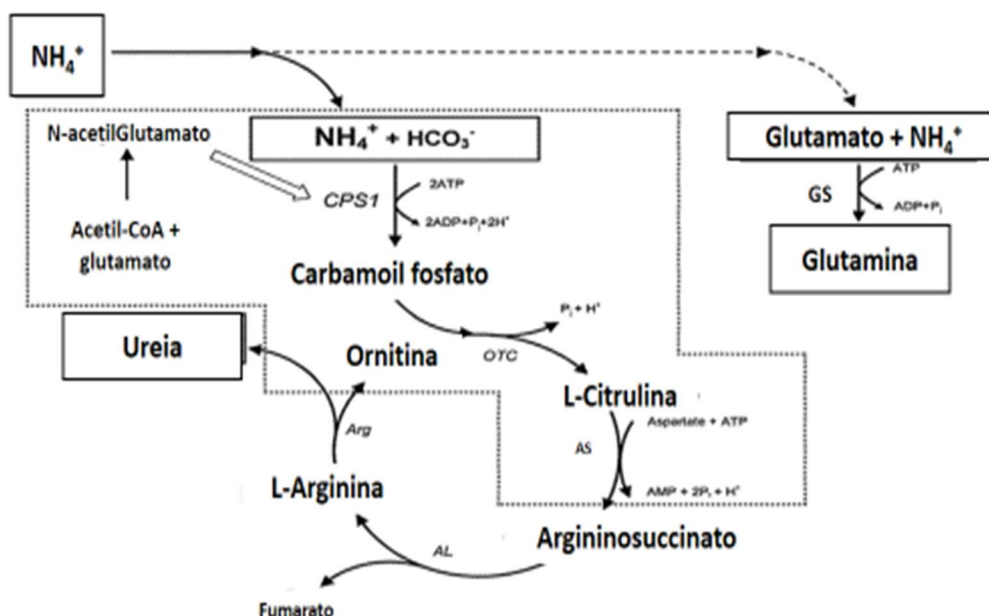


Figura 3. Vias de detoxificação da amônia no fígado. Extraído e adaptado de Wilkinson et al., 2010 (27). GS (glutamina sintetase), Arg (arginina), AL (Argininosuccinato liase), AS (argininosuccinato sintetase),

OTC (ornitina transcarbamilase), CPS1 (carbamoil fosfato sintetase 1), HCO_3^- (bicarbonato).

Os hepatócitos utilizam dois produtos finais do metabolismo, a amônia e o dióxido de carbono (sob a forma de bicarbonato), para gerar alguns aminoácidos (citrulina, arginina e ornitina), através de uma cadeia de reações (ciclo da ureia) (49). O ciclo da ureia é composto por aminoácidos livres como a L-ornitina e relaciona-se de perto com a produção de ureia e L-arginina pela ação da enzima arginase, assim, se a velocidade de resposta do ciclo da ureia for acentuada, através da disponibilidade de carbamoil fosfato sintetase 1 com aumento da concentração de glutamina (a partir do N-acetil glutamato sintetizado pelo acúmulo de amônia), a fadiga pode ser melhorada pela redução do acúmulo de amônia no músculo esquelético (50).

O ciclo da ureia juntamente com a síntese de glutamina, formam os dois principais sistemas de desintoxicação de amônia (34, 51). A glutamina sintetase (Figura. 4) catalisa a reação entre amônia e o glutamato para formar glutamina e essa reação consome uma molécula de ATP: $\text{Glutamato} + \text{NH}_4^+ + \text{ATP} \rightarrow \text{Glutamina} + \text{ADP} + \text{Pi}$ (48). A concentração total de ureia pode refletir a total excreção de amônia, além da produção de IMP que está correlacionada com a presença de urato no sangue que é o produto final do catabolismo das purinas (47).

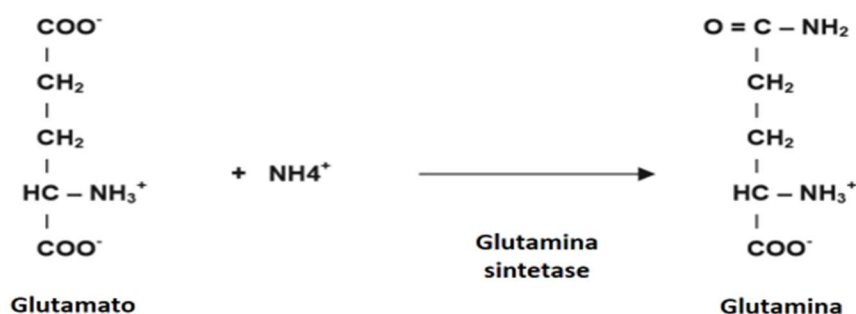


Figura 4. Ação da glutamina sintetase. Extraído e adaptado de Adeva et al., 2012 (49).

A concentração de glutamina no cérebro aumenta consideravelmente durante a hiperamonemia (37), e a glutamina é sintetizada diretamente do glutamato, com isso, pode-se esperar que a hiperamonemia resulte em uma diminuição da concentração de glutamato cerebral (37).

No cérebro, a reação da glutamina sintetase é uma via importante para a remoção de glutamato. Uma vez que a glutamina é um precursor do glutamato, pode-se considerar que a glutamina é uma forma de armazenamento de glutamato. A glutamina sintetase requer um cátion divalente (Mg^{2+} , Mn^{2+} ou Co^{2+}) para a atividade completa (37).

1.3.3 HIPERAMONEMIA E DANO FÍSICO E COGNITIVO-MOTOR

1.3.3.1 NA PATOLOGIA

A elevação da concentração de amônia sanguínea ocorre em uma variedade de situações, incluindo disfunção das células hepáticas, desordens no ciclo da ureia, síndrome da hiperamonemia, dentre outros (49). A hiperamonemia é uma condição metabólica caracterizada por elevados níveis de amônia, comumente encontrada em lesão/insuficiência aguda e crônica do fígado, que parece levar a distúrbios no desempenho físico e cognitivo-motor, por gerar prejuízos na memória, na tomada de decisões e na coordenação motora (27, 52).

Em indivíduos saudáveis, não se pode demonstrar uma diferença arteriovenosa cerebral de amônia, indicando equilíbrio entre absorção e excreção, mas durante a doença do fígado, a amônia arterial torna-se elevada e o cérebro absorve amônia, podendo alterar a função cerebral, resultando em encefalopatia hepática (EH). A EH é uma síndrome neuropsiquiátrica complexa que leva a uma ampla gama de alterações neurológicas e psiquiátricas, incluindo comprometimento cognitivo e motor que podem progredir para coma e morte (53, 54).

Essa patologia, com a formação exacerbada de amônia, induz além de complicações e edemas cerebrais pela doença hepática, outras alterações como: redução da massa muscular, alteração no metabolismo e inflamação (35, 53).

Existe uma série de doenças em humanos associada à hiperamonemia, sendo a cirrose hepática a mais frequente. Os pacientes com doença hepática crônica diminuem concomitantemente a capacidade de desintoxicação de amônia em ureia, deslocam a via metabólica da amônia para o sistema muscular, para o astrócito no sistema nervoso central (SNC) e para o rim (38). E isso ocorre quando o fígado é incapaz de limpar a amônia, entrando na circulação sistêmica sendo conduzido ao tecido cerebral, resultando em uma variedade de anormalidades neuropsiquiátricas (55).

Existem dois principais tipos de hiperamonemia: (1) hiperamonemia moderada crônica, como ocorre na cirrose hepática, o que leva à alteração da função cerebral e é responsável pelas alterações neurológicas em diferentes estados de hiperamonimia e por algumas das alterações neurológicas na doença hepática e encefalopatia hepática; e (2) intoxicação aguda com grandes doses de amônia, o que pode levar à morte rápida de animais ou pacientes. Esta situação ocorre na insuficiência hepática aguda (48).

A EH presente em pacientes com doença no fígado, que apresenta manifestações que incluem disfunção psicomotora, memória prejudicada, aumento do tempo de reação, anormalidades sensoriais e baixa concentração (56). O primeiro estágio é a mínima EH (MEH), com déficit na atenção, comprometimento cognitivo leve e alterações na coordenação motora que prejudicam a qualidade de vida e reduz a vida útil (57).

Cerca de 40% de pacientes cirróticos apresentam uma MEH, e já são vistas anormalidades significativas no desempenho neurofisiológico que podem afetar a sua qualidade de vida (34, 56). O tratamento precoce de pacientes com EH melhoraria a sua qualidade de vida e vida útil, reduzindo acidentes, hospitalizações e custos associados (58).

1.3.3.2 NO EXERCÍCIO

O músculo esquelético possui a capacidade única de consumir energia que são centenas de vezes maiores do que os valores de repouso. Esta grande variedade de demandas de energia apresenta um desafio muscular para manter um estado de energia adequado (41). Os custos de energia associados à manutenção da função muscular são suportados pela hidrólise de ligações de fosfato de alta energia.

A indução da hiperamonemia através exercício, tem sido atribuída à formação da amônia por meio da contração muscular, através da ativação do ciclo das purinas ou aumento no metabolismo dos aminoácidos de cadeia ramificada (59). A produção de amônia aumenta durante o exercício de alta intensidade, proveniente da desaminação de AMP e, em menor medida, da oxidação de aminoácidos de cadeia ramificada e essa produção tem sido associada com a fadiga (60, 61).

Os produtos finais do metabolismo da amônia e das purinas são, respectivamente, ureia e urato, e o estudo da cinética desses substratos sanguíneos servem para compreender melhor a origem metabólica da amônia e a resposta ao exercício, já que níveis aumentados na ureia refletem tanto AMP quanto a desaminação de aminoácidos e o urato é o metabolito final da purina e sua medida pode ser relacionada à desaminação de IMP (62).

A redução da produção de amônia poderia ser um reflexo da diminuição da atividade da AMP desaminase, diminuição da atividade da desidrogenase do glutamato e/ou aumento da formação de alanina e glutamina (63).

A produção e a acumulação de amônia no músculo esquelético durante o exercício intenso com uma alta contribuição da produção de energia anaeróbica servem de gatilho para a redução do desempenho, e tal diminuição pode ser vinda pelo metabolismo rápido da amônia produzida no músculo esquelético (50).

Valores de referência em pessoas normais em repouso apresentam o intervalo de 11.2 - 48.2 $\mu\text{mol/L}$, mas essas concentrações de amônia podem chegar a valores mais altos durante o exercício, entendendo que seus valores como marcador fisiológico em exercício prolongado intenso está diretamente ligado a intensidade do exercício (61). Em estudo realizado com jogadores de futebol, as concentrações de amônia venosa em repouso são mantidos em 40 - 60 μM , no entanto, ao final do experimento, em ambos os protocolos e independente do aminoácido suplementado, os níveis de amônia aumentaram significativamente, atingindo uma média de 272 μM , sabendo que um quadro de HE grave mostra valores de 300-500 μM e poderia levar ao coma (61, 64).

No estudo de Lacerda (2007) (65), a exposição ao ambiente quente causou uma melhoria da potência para um único Sprint de 30 segundos em ciclo ergômetro, e como consequência, para manter a carga de energia do trabalho muscular, houve maior desaminação da AMP para IMP, colaborando para a elevação da concentração plasmática de amônia.

Quaisquer estratégias para proteger contra a hiperamonemia podem aumentar o desempenho físico ou prevenir lesões do SNC (64).

1.4 FATORES POTENCIALIZADORES DA HIPERAMONEMIA NO EXERCÍCIO

O exercício físico, por muitas vezes, causa um aumento acentuado na temperatura corporal e isso é pensado como um benefício ao aumentar as taxas das reações metabólicas, como as vias glicolíticas e oxidativas dentro do corpo (19). No entanto, quando os efeitos do estresse térmico (hipertermia e/ou desidratação) são adicionados ao corpo quando se exercita por períodos prolongados acaba reduzindo a capacidade e o desempenho no exercício (66).

A glicose produzida a partir do fígado, durante o exercício com intensidade de cerca de 60% do VO_2 máx, começa a reduzir em torno de 90 minutos após o início do exercício e o glicogênio armazenado no fígado é

mobilizado (67). A redução da disponibilidade de carboidratos para oxidação é uma das causas mais conhecidas da fadiga. Associado à hipertermia, durante o exercício aeróbico intenso, a ação enzimática aumenta o catabolismo do glicogênio muscular e essa depleção reduz o desempenho mesmo em ambiente termoneutro (13).

Essa alteração na velocidade no metabolismo do carboidrato pode aumentar a degradação de proteínas quando os estoques no exercício são reduzidos, principalmente em ambiente quente e com isso, podem provocar o aumento exacerbado da amonemia, causando danos ao desempenho esportivo, através da fadiga central e/ou periférica (68, 69). E essa intoxicação aguda de amônia, além de produzir alterações nos marcadores do metabolismo energético no cérebro, aumenta a depleção de ATP devido ao aumento do gasto, redução da síntese, ou ambos (34).

Reduzir a elevação da temperatura corporal durante o exercício, através do ambiente fresco, reidratação ou aclimatação ao calor, proporcionar um resfriamento externo, podem reduzir a taxa glicogenolítica muscular e/ou taxa de oxidação de carboidratos (13, 69). A ingestão de água durante o exercício, não melhora somente o desempenho, mas também atenua ou previne aumentos progressivos na frequência cardíaca, temperatura corporal e percepção de esforço, além de prevenir queda progressiva no volume sanguíneo, redução do volume de sistólico e débito cardíaco (70, 71).

As exigências do sistema cardiovascular, termorregulatório, metabólico, nervoso e endócrino para sustentar tais respostas extremas durante a competição são, sem dúvida, muito severas, especialmente se os atletas tiverem de lidar com o estresse da desidratação e hipertermia (11). Além disso, o uso de protocolos de exercício resultando em alta tensão cardiovascular, cria implicações para a prescrição do exercício principalmente se associado à hipertermia e a desidratação (12, 72).

1.5 INTERVENÇÕES PARA REDUÇÃO DA HIPERAMONEMIA NO EXERCÍCIO

1.5.1 INTERAÇÕES GERAIS: KAAA, GLUTAMINA E ARGININA

Muitas substâncias estão sendo estudadas, com a finalidade de reduzir os efeitos deletérios da hiperamonemia, como queda no desempenho atlético e comprometimentos na função cognitivo-motora.

A suplementação com cloridrato de L-ornitina foi utilizado em um exercício anaeróbico intermitente máximo por Demura et al.(2011) (50), para verificar seu o efeito no metabolismo da amônia e melhoria no desempenho, e foi visto que houve redução na fadiga muscular e melhora no desempenho anaeróbico máximo, mesmo sem encontrar diferenças significativas nos níveis de amônia plasmática entre a ingestão de cloridrato de L-ornitina e placebo.

Já no estudo de Miskulski et al. (2015) (45), a suplementação foi realizada com o BCAA + L-ornitina e L-aspartato, em um teste em cicloergometro de alta intensidade, com o intuito de reduzir a concentração de amônia plasmática e melhorar o desempenho psicomotor, tendo como resultado mais importante a redução do tempo de reação e retorno mais rápido aos valores de repouso no grupo suplementado.

A suplementação com citrulina prolongou o período até a exaustão e esse efeito envolveu a inibição de amônia no sangue, além de atrasar a redução do glicogênio e reduzir o nível de lactato sanguíneo em comparação ao grupo não suplementado (43).

Atletas realizaram 2 h de ciclismo (com dieta com baixa ingestão de carboidratos), seguido de um teste máximo utilizando uma suplementação contendo cetoácidos e alguns aminoácidos (KAAA) para melhorar a tolerância ao exercício, avaliando o seu efeito no metabolismo da amônia e no desempenho cognitivo-motor, e foi visto que o grupo placebo aumentou a concentração de amônia (~70%) em comparação ao grupo suplementado,

mas não afetou o desempenho físico e cognitivo-motor (62). Com a mesma suplementação (KAAA), Prado e colaboradores (2011) (73), realizaram 2 h de ciclismo (com dieta com baixa ingestão de carboidratos), porém, sem o teste máximo e foi visto que a suplementação aguda de KAAA atrasou o aumento da concentração de urato no sangue durante o exercício prolongado e o seu principal efeito durante o exercício não se deve principalmente à remoção de amônia através da síntese de uréia, mas sim aos corpos de carbono usados para produzir ATP.

A resposta metabólica para atletas com suplementação de glutamina e alanina indicaram que tanto a intensidade do exercício quanto a suplementação são fatores limitantes no efeito protetor da glutamina e tomado os dois juntos as concentrações basais de amônia tiveram maior contribuição do processo de desaminação de aminoácidos do que da desaminação de AMP, e os resultados mostram claramente que cinco dias de suplementação de glutamina antes do exercício previne parcialmente a hiperamonemia observada após o exercício intermitente e contínuo (64). Em outro estudo com corredores profissionais com suplementação de glutamina e carboidratos, foi visto que a amônia aumenta progressivamente durante uma corrida de 120 minutos em aproximadamente 34 km e a ingestão prévia de glutamina, carboidratos ou ambos resultou em uma redução de 15% na resposta geral de amônia, com maior efeito (até 30%) após 60 minutos de exercício (74).

Aumento na temperatura corporal, devido a uma resposta ao estresse físico, implica em muitas modificações metabólicas. Pensando na redução da temperatura corporal como forma de favorecer o desempenho, o paracetamol vem sendo estudado visando reduzir possíveis prejuízos.

1.6 NOVA PROPOSTA DE INTERVENÇÃO PARA HIPERAMONEMIA INDUZIDA PELO EXERCÍCIO

1.6.1 PARACETAMOL

O Acetaminofeno (N-acetyl-para-aminophenol), também conhecido como paracetamol (PCT), é um medicamento comumente utilizado sem

prescrição médica para alívio de dores e para redução da temperatura corporal em pacientes febris (75, 76). É um medicamento bem aceito, um antipirético clinicamente comprovado e faz parte da classe mais importante de medicamentos utilizados terapeuticamente para efeito na temperatura corporal, acredita-se que a sua ação seja no centro de regulação do calor no hipotálamo (77, 78).

O paracetamol foi introduzido no mercado farmacológico em 1955 pela McNeil Laboratories como um medicamento analgésico e antipirético prescrito para crianças sob o nome comercial Tylenol Children's Elixir (o nome do tilenol deriva do seu nome químico - N-acetil-p-aminofenol) (79).

Apesar da sua popularidade na medicina, o mecanismo pelo qual o paracetamol atinge os seus efeitos sobre a febre e a dor ainda é bastante debatido, no entanto, é sabido ser muito eficaz em doses terapêuticas de 500 – 1.000 mg três a quatro vezes por dia, com muito poucos efeitos adversos (75, 80).

Tem propriedades analgésicas e antipiréticas semelhantes aos AINEs (droga anti-inflamatória não esteróide), mas, contrariamente a elas, não possui grande atividade anti-inflamatória. Quando aplicado em doses recomendadas, não induz os efeitos colaterais gastrointestinais de AINEs, no entanto, ele suprime a produção de prostaglandinas semelhante aos AINEs (79).

Supõe-se que o PCT provavelmente age através da via da cicloxigenase (COX), que é uma enzima responsável pela síntese de prostaglandinas (PGs) (80). As PGs possuem uma diversidade de receptores específicos e mecanismos reguladores atuam na coagulação sanguínea, na ovulação, metabolismo ósseo, crescimento e desenvolvimento neuronal, tônus vascular, resposta imune, dentre outros. As suas enzimas estão em toda parte da fisiologia humana e regula inúmeros processos, incluindo o metabolismo da proteína muscular (81). O ácido araquidônico é convertido pela PG G/H sintase, também denominada ciclooxigenase (COX), nos compostos intermediários PGG₂ e PGH₂ (Figura 5) (82).

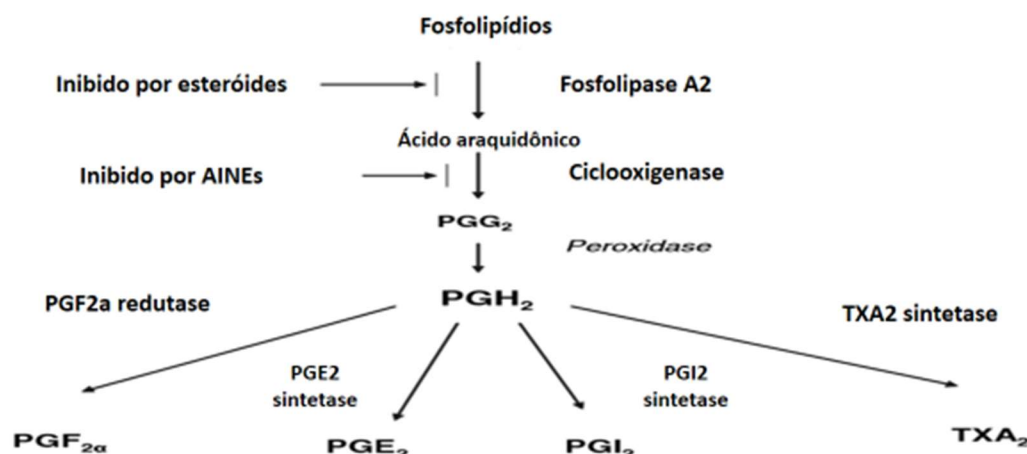


Figura 5. Metabolismo do ácido araquidônico. Extraído e adaptado de Anderson, 2008 (80). PG (prostaglandinas), TXA₂ (tromboxano A₂).

Muitas investigações centraram-se na inibição do paracetamol da enzima COX porque os seus efeitos analgésicos e antipiréticos são semelhantes aos da aspirina e dos AINEs. No entanto, o paracetamol não tem uma atividade anti-inflamatória significativa, nem inibe a produção dos pró-coagulantes, ou seja, embora possa haver algum efeito nas enzimas COX, esse efeito é diferente do observado com os AINEs. O PCT não parece ter um efeito importante periféricamente, sua ação parece ser principalmente central, já que atravessa a barreira hematoencefálica com facilidade e é distribuída de forma homogênea ao longo do SNC (76, 79, 80).

A enzima ciclooxygenase apresenta duas isoformas intituladas COX-1 e COX-2. A COX-1 é constitutivamente expressa numa variedade de células e tecidos, a outra isoforma, a COX-2, é o produto de um gene de resposta precoce e imediato em células inflamatórias, sendo que expressão de COX-2 se mostra em maior quantidade na presença citocinas incluindo IL-1 e TNF-α (83). Apesar da ação do PCT na COX, seus mecanismos de ação diferem dos anti-inflamatórios não hormonais, além do paracetamol apresentar um menor efeito na periferia (84).

Em estudo realizado por Li et al. (2008) (85), foi observado se a queda da TC produzida pelo PCT tanto em ratos não febris quanto em febris, independentemente de ser antes ou após a febre se desenvolver, o PCT exerce uma ação hipotérmica em animais não febris e febris utilizando a mesma dose, portanto, é independente da TC inicial. O efeito hipotérmico que exerce não é provavelmente devido à sua atividade inibidora de PGHS-2 (COX-2). A COX-3 foi proposta para explicar este efeito hipotérmico, no entanto, não há evidências consistentes na literatura de que participe no controle da temperatura corporal normal em qualquer espécie e um estudo recente demonstrou que o PCT produz hipotermia em camundongos por meio de um mecanismo independente de COX-3 (79, 86).

Muitos atletas têm utilizado o medicamento pelo seu efeito ergogênico (87). No estudo de Foster et al. (2014) (88), foi visto que o paracetamol melhora o rendimento através da redução da dor, permitindo que os atletas se exercitem mais próximo do seu limite fisiológico e em comparação com o placebo, a ingestão de 1,5 g de PCT antes de oito *sprints* de 30 s em Wingate Anaerobic Tests (WAnTs), aumentou significativamente a potência média nos três sprints finais, resultando em uma potência média global significativamente maior.

No entanto, seus efeitos com relação à redução da temperatura corporal em situação de exercício em pacientes não febris ainda não tem muita evidência. Um outro estudo de Foster et al. (2017) (89), mostrou que o paracetamol não tem efeito na temperatura corporal em ambiente termoneutro (25° C), mas houve hipotermia exacerbada em exposição ao frio (10° C), em comparação ao placebo.

A ingestão de 20 mg/kg da massa corporal reduziu a temperatura corporal durante 120 minutos de exposição passiva (90). Porém, Coombs et al. (2015) (87), apresentam evidencia clara de que a ingestão de 20 mg/kg da massa corporal de paracetamol, 60 minutos antes de praticar 60 minutos de ciclismo, em intensidade moderada, não altera, de forma independente, o

controle de termorregulação ou associa a respostas perceptivas à condição de exercício quente e úmido.

Também utilizando a mesma dosagem (20 mg/kg da massa corporal), o estudo de Mauger et al. (2014) (9), demonstrou que com uma dose aguda de paracetamol, é capaz de melhorar significativamente o tempo de exaustão de ciclistas em ambiente quente e ainda reduziu a temperatura corporal, a temperatura da pele e a sensação térmica. Já no estudo de Burtscher et al. (2013) (91), foi visto que a elevação da temperatura corporal foi significativamente reduzida com o uso do paracetamol (500 mg), 20 minutos antes da corrida no calor e o seu desempenho permaneceu inalterado.

Valtemeijer et al. (2016) (8), aponta outro caminho como causa da elevação da temperatura corporal durante o exercício. Mostrando que a presença de citosinas inflamatórias contribuem para o aumento da TC através de alterações no valor de referência de temperatura do hipotálamo, dessa forma o paracetamol agiria na inibição das COX-2 reduzindo em parte a temperatura corporal. Sugerindo que a temperatura hipotalâmica elevada induzida pela prostaglandina E2 pode contribuir para o aumento na TC induzido pelo exercício.

1.7 CONCLUSÕES

Parece provável que a hipertermia e/ou a hiperamonemia desempenham um papel importante durante o exercício e podem prejudicar o desempenho. É provável que ambas as situações, durante o exercício, possam imitar os efeitos observados em condições patológicas, atuando principalmente a nível do SNC (danos cognitivos-motores), promovendo alterações comportamentais e neurofisiológicas que induzem fadiga e/ou exaustão. Algumas formas de intervenção parecem ser promissoras para atenuar os problemas relacionados ao desempenho em tais condições.

REFERÊNCIAS

1. Harrington ME. Neurobiological studies of fatigue. *Progress in neurobiology*. 2012;99(2):93-105.
2. Schlader ZJ, Stannard SR, Mundel T. Exercise and heat stress: performance, fatigue and exhaustion--a hot topic. *British journal of sports medicine*. 2011;45(1):3-5.
3. Cordeiro LMS, Rabelo PCR, Moraes MM, Teixeira-Coelho F, Coimbra CC, Wanner SP, et al. Physical exercise-induced fatigue: the role of serotonergic and dopaminergic systems. *Brazilian journal of medical and biological research = Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas*. 2017;50(12):e6432.
4. Ament W, Verkerke GJ. Exercise and fatigue. *Sports medicine (Auckland, NZ)*. 2009;39(5):389-422.
5. Finsterer J, Mahjoub SZ. Fatigue in healthy and diseased individuals. *The American journal of hospice & palliative care*. 2014;31(5):562-75.
6. Ely BR, Ely MR, Cheuvront SN, Kenefick RW, Degroot DW, Montain SJ. Evidence against a 40 degrees C core temperature threshold for fatigue in humans. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md : 1985)*. 2009;107(5):1519-25.
7. Bradford CD, Cotter JD, Thorburn MS, Walker RJ, Gerrard DF. Exercise can be pyrogenic in humans. *American journal of physiology Regulatory, integrative and comparative physiology*. 2007;292(1):R143-9.
8. Veltmeijer MTW, Veeneman D, Bongers C, Netea MG, van der Meer JW, Eijssvogels TMH, et al. The Impact of Central and Peripheral Cyclooxygenase Enzyme Inhibition on Exercise-Induced Elevations in Core Body Temperature. *International journal of sports physiology and performance*. 2017;12(5):662-7.
9. Mauger AR, Taylor L, Harding C, Wright B, Foster J, Castle PC. Acute acetaminophen (paracetamol) ingestion improves time to exhaustion during exercise in the heat. *Experimental physiology*. 2014;99(1):164-71.
10. Edwards RH, Hill DK, Jones DA. Heat production and chemical changes during isometric contractions of the human quadriceps muscle. *The Journal of physiology*. 1975;251(2):303-15.
11. Gonzalez-Alonso J, Crandall CG, Johnson JM. The cardiovascular challenge of exercising in the heat. *The Journal of physiology*. 2008;586(1):45-53.
12. Cheung SS, Sleivert GG. Multiple triggers for hyperthermic fatigue and exhaustion. *Exercise and sport sciences reviews*. 2004;32(3):100-6.
13. Fernandez-Elias VE, Hamouti N, Ortega JF, Mora-Rodriguez R. Hyperthermia, but not muscle water deficit, increases glycogen use during intense exercise. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*. 2015;25 Suppl 1:126-34.

14. Nielsen B, Nybo L. Cerebral changes during exercise in the heat. *Sports medicine (Auckland, NZ)*. 2003;33(1):1-11.
15. Nybo L. Exercise and heat stress: cerebral challenges and consequences. *Progress in brain research*. 2007;162:29-43.
16. Nybo L. CNS fatigue provoked by prolonged exercise in the heat. *Frontiers in bioscience (Elite edition)*. 2010;2:779-92.
17. Kenefick RW, Cheuvront SN, Sawka MN. Thermoregulatory function during the marathon. *Sports medicine (Auckland, NZ)*. 2007;37(4-5):312-5.
18. Cheuvront SN, Kenefick RW, Montain SJ, Sawka MN. Mechanisms of aerobic performance impairment with heat stress and dehydration. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md : 1985)*. 2010;109(6):1989-95.
19. Mundel T. Exercise heat stress and metabolism. *Medicine and sport science*. 2008;53:121-9.
20. Tan PM, Lee JK. The role of fluid temperature and form on endurance performance in the heat. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*. 2015;25 Suppl 1:39-51.
21. Rosenberg H, Davis M, James D, Pollock N, Stowell K. Malignant hyperthermia. *Orphanet journal of rare diseases*. 2007;2:21.
22. Sosnowski P, Mikrut K, Krauss H. [Hypothermia--mechanism of action and pathophysiological changes in the human body]. *Postepy higieny i medycyny doswiadczalnej (Online)*. 2015;69:69-79.
23. Epstein Y, Roberts WO. The pathophysiology of heat stroke: an integrative view of the final common pathway. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*. 2011;21(6):742-8.
24. Morrison SF. Central control of body temperature. *F1000Research*. 2016;5.
25. Nybo L, Girard O, Mohr M, Knez W, Voss S, Racinais S. Markers of muscle damage and performance recovery after exercise in the heat. *Medicine and science in sports and exercise*. 2013;45(5):860-8.
26. Linnane DM, Bracken RM, Brooks S, Cox VM, Ball D. Effects of hyperthermia on the metabolic responses to repeated high-intensity exercise. *European journal of applied physiology*. 2004;93(1-2):159-66.
27. Wilkinson DJ, Smeeton NJ, Watt PW. Ammonia metabolism, the brain and fatigue; revisiting the link. *Progress in neurobiology*. 2010;91(3):200-19.
28. Capacchione JF, Muldoon SM. The relationship between exertional heat illness, exertional rhabdomyolysis, and malignant hyperthermia. *Anesthesia and analgesia*. 2009;109(4):1065-9.
29. Sakurada S, Hales JR. A role for gastrointestinal endotoxins in enhancement of heat tolerance by physical fitness. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md : 1985)*. 1998;84(1):207-14.
30. Nybo L, Nielsen B. Hyperthermia and central fatigue during prolonged exercise in humans. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md : 1985)*. 2001;91(3):1055-60.

31. Prakash R, Mullen KD. Mechanisms, diagnosis and management of hepatic encephalopathy. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*. 2010;7(9):515-25.
32. Weiner ID, Verlander JW. Renal ammonia metabolism and transport. *Comprehensive Physiology*. 2013;3(1):201-20.
33. Spacek LA, Mudalel M, Tittel F, Risby TH, Solga SF. Clinical utility of breath ammonia for evaluation of ammonia physiology in healthy and cirrhotic adults. *Journal of breath research*. 2015;9(4):047109.
34. Monfort P, Kosenko E, Erceg S, Canales JJ, Felipe V. Molecular mechanism of acute ammonia toxicity: role of NMDA receptors. *Neurochemistry international*. 2002;41(2-3):95-102.
35. Monfort P, Cauli O, Montoliu C, Rodrigo R, Llansola M, Piedrafita B, et al. Mechanisms of cognitive alterations in hyperammonemia and hepatic encephalopathy: therapeutic implications. *Neurochemistry international*. 2009;55(1-3):106-12.
36. Weiner ID, Verlander JW. Role of NH₃ and NH₄⁺ transporters in renal acid-base transport. *American journal of physiology Renal physiology*. 2011;300(1):F11-23.
37. Cooper AJ, Jeitner TM. Central Role of Glutamate Metabolism in the Maintenance of Nitrogen Homeostasis in Normal and Hyperammonemic Brain. *Biomolecules*. 2016;6(2).
38. Souto PA, Marcotegui AR, Orbea L, Skerl J, Perazzo JC. Hepatic encephalopathy: Ever closer to its big bang. *World journal of gastroenterology*. 2016;22(42):9251-6.
39. Weiner ID, Verlander JW. Ammonia Transporters and Their Role in Acid-Base Balance. *Physiological reviews*. 2017;97(2):465-94.
40. Terjung RL, Dudley GA, Meyer RA. Metabolic and circulatory limitations to muscular performance at the organ level. *The Journal of experimental biology*. 1985;115:307-18.
41. Hancock CR, Brault JJ, Terjung RL. Protecting the cellular energy state during contractions: role of AMP deaminase. *Journal of physiology and pharmacology : an official journal of the Polish Physiological Society*. 2006;57 Suppl 10:17-29.
42. Calvert LD, Steiner MC, Morgan MD, Singh SJ. Plasma ammonia response to incremental cycling and walking tests in COPD. *Respiratory medicine*. 2010;104(5):675-81.
43. Takeda K, Machida M, Kohara A, Omi N, Takemasa T. Effects of citrulline supplementation on fatigue and exercise performance in mice. *Journal of nutritional science and vitaminology*. 2011;57(3):246-50.
44. Hellsten Y, Richter EA, Kiens B, Bangsbo J. AMP deamination and purine exchange in human skeletal muscle during and after intense exercise. *The Journal of physiology*. 1999;520 Pt 3:909-20.
45. Mikulski T, Dabrowski J, Hilgier W, Ziemia A, Krzeminski K. Effects of supplementation with branched chain amino acids and ornithine aspartate on

plasma ammonia and central fatigue during exercise in healthy men. *Folia neuropathologica*. 2015;53(4):377-86.

46. Wagenmakers AJ, Coakley JH, Edwards RH. Metabolism of branched-chain amino acids and ammonia during exercise: clues from McArdle's disease. *International journal of sports medicine*. 1990;11 Suppl 2:S101-13.

47. Coelho WS, Viveiros de Castro L, Deane E, Magno-Franca A, Bassini A, Cameron LC. Investigating the Cellular and Metabolic Responses of World-Class Canoeists Training: A Sportomics Approach. *Nutrients*. 2016;8(11).

48. Kosenko E, Llansola M, Montoliu C, Monfort P, Rodrigo R, Hernandez-Viadel M, et al. Glutamine synthetase activity and glutamine content in brain: modulation by NMDA receptors and nitric oxide. *Neurochemistry international*. 2003;43(4-5):493-9.

49. Adeva MM, Souto G, Blanco N, Donapetry C. Ammonium metabolism in humans. *Metabolism: clinical and experimental*. 2012;61(11):1495-511.

50. Demura S, Morishita K, Yamada T, Yamaji S, Komatsu M. Effect of L-ornithine hydrochloride ingestion on intermittent maximal anaerobic cycle ergometer performance and fatigue recovery after exercise. *European journal of applied physiology*. 2011;111(11):2837-43.

51. Haussinger D. Liver glutamine metabolism. *JPEN Journal of parenteral and enteral nutrition*. 1990;14(4 Suppl):56s-62s.

52. Gutierrez-de-Juan V, Lopez de Davallillo S, Fernandez-Ramos D, Barbier-Torres L, Zubiete-Franco I, Fernandez-Tussy P, et al. A morphological method for ammonia detection in liver. *PloS one*. 2017;12(3):e0173914.

53. Ott P, Vilstrup H. Cerebral effects of ammonia in liver disease: current hypotheses. *Metabolic brain disease*. 2014;29(4):901-11.

54. Llansola M, Montoliu C, Cauli O, Hernandez-Rabaza V, Agusti A, Cabrera-Pastor A, et al. Chronic hyperammonemia, glutamatergic neurotransmission and neurological alterations. *Metabolic brain disease*. 2013;28(2):151-4.

55. Cauli O, Mili N, Rodrigo R, Felipe V. Hyperammonaemia alters the mechanisms by which metabotropic glutamate receptors in nucleus accumbens modulate motor function. *Journal of neurochemistry*. 2007;103(1):38-46.

56. Gonzalez-Usano A, Cauli O, Agusti A, Felipe V. Pregnenolone sulfate restores the glutamate-nitric-oxide-cGMP pathway and extracellular GABA in cerebellum and learning and motor coordination in hyperammonemic rats. *ACS chemical neuroscience*. 2014;5(2):100-5.

57. Mangas-Losada A, Garcia-Garcia R, Urios A, Escudero-Garcia D, Tosca J, Giner-Duran R, et al. Minimal hepatic encephalopathy is associated with expansion and activation of CD(4+)CD28(-), Th22 and Tfh and B lymphocytes. *Scientific reports*. 2017;7(1):6683.

58. Hernandez-Rabaza V, Cabrera-Pastor A, Taoro-Gonzalez L, Gonzalez-Usano A, Agusti A, Balzano T, et al. Neuroinflammation increases GABAergic tone and impairs cognitive and motor function in hyperammonemia by increasing GAT-3 membrane expression. Reversal by sulforaphane by promoting M2 polarization of microglia. *Journal of neuroinflammation*. 2016;13(1):83.

59. Banister EW, Cameron BJ. Exercise-induced hyperammonemia: peripheral and central effects. *International journal of sports medicine*. 1990;11 Suppl 2:S129-42.
60. Matthys D, Calders P, Pannier JL. Inhaled salbutamol decreases blood ammonia levels during exercise in normal subjects. *European journal of applied physiology and occupational physiology*. 1998;79(1):110-3.
61. Alvear-Ordenes I, Garcia-Lopez D, De Paz JA, Gonzalez-Gallego J. Sweat lactate, ammonia, and urea in rugby players. *International journal of sports medicine*. 2005;26(8):632-7.
62. Camerino SR, Lima RC, Franca TC, Herculano Ede A, Rodrigues DS, Gouveia MG, et al. Keto analogue and amino acid supplementation and its effects on ammonia and performance under thermoneutral conditions. *Food & function*. 2016;7(2):872-80.
63. Graham TE, Turcotte LP, Kiens B, Richter EA. Effect of endurance training on ammonia and amino acid metabolism in humans. *Medicine and science in sports and exercise*. 1997;29(5):646-53.
64. Bassini-Cameron A, Monteiro A, Gomes A, Werneck-de-Castro JP, Cameron L. Glutamine protects against increases in blood ammonia in football players in an exercise intensity-dependent way. *British journal of sports medicine*. 2008;42(4):260-6.
65. Lacerda AC, Gripp F, Rodrigues LO, Silami-Garcia E, Coimbra CC, Prado LS. Acute heat exposure increases high-intensity performance during sprint cycle exercise. *European journal of applied physiology*. 2007;99(1):87-93.
66. Wingo JE. Exercise intensity prescription during heat stress: A brief review. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*. 2015;25 Suppl 1:90-5.
67. Kim DH, Kim SH, Jeong WS, Lee HY. Effect of BCAA intake during endurance exercises on fatigue substances, muscle damage substances, and energy metabolism substances. *Journal of exercise nutrition & biochemistry*. 2013;17(4):169-80.
68. Blomstrand E, Saltin B. Effect of muscle glycogen on glucose, lactate and amino acid metabolism during exercise and recovery in human subjects. *The Journal of physiology*. 1999;514 (Pt 1):293-302.
69. Febbraio MA. Alterations in energy metabolism during exercise and heat stress. *Sports medicine (Auckland, NZ)*. 2001;31(1):47-59.
70. Gonzalez-Alonso J, Mora-Rodriguez R, Below PR, Coyle EF. Dehydration markedly impairs cardiovascular function in hyperthermic endurance athletes during exercise. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md : 1985)*. 1997;82(4):1229-36.
71. Montain SJ, Coyle EF. Influence of graded dehydration on hyperthermia and cardiovascular drift during exercise. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md : 1985)*. 1992;73(4):1340-50.

72. Wingo JE, Ganio MS, Cureton KJ. Cardiovascular drift during heat stress: implications for exercise prescription. *Exercise and sport sciences reviews*. 2012;40(2):88-94.
73. Prado ES, de Rezende Neto JM, de Almeida RD, Doria de Melo MG, Cameron LC. Keto analogue and amino acid supplementation affects the ammoniaemia response during exercise under ketogenic conditions. *The British journal of nutrition*. 2011;105(12):1729-33.
74. Carvalho-Peixoto J, Alves RC, Cameron LC. Glutamine and carbohydrate supplements reduce ammoniaemia increase during endurance field exercise. *Applied physiology, nutrition, and metabolism = Physiologie appliquee, nutrition et metabolisme*. 2007;32(6):1186-90.
75. Cowman JG, Bakheet M. Student-selected component in the medical curriculum: investigations and psychiatric referral for paracetamol overdose in an accident and emergency department. *Advances in medical education and practice*. 2017;8:611-7.
76. Ghanem CI, Perez MJ, Manautou JE, Mottino AD. Acetaminophen from liver to brain: New insights into drug pharmacological action and toxicity. *Pharmacological research*. 2016;109:119-31.
77. Clark WG. Changes in body temperature after administration of antipyretics, LSD, delta 9-THC and related agents: II. *Neuroscience and biobehavioral reviews*. 1987;11(1):35-96.
78. Kasner SE, Wein T, Piriyaawat P, Villar-Cordova CE, Chalela JA, Krieger DW, et al. Acetaminophen for altering body temperature in acute stroke: a randomized clinical trial. *Stroke*. 2002;33(1):130-4.
79. Jozwiak-Bebenista M, Nowak JZ. Paracetamol: mechanism of action, applications and safety concern. *Acta poloniae pharmaceutica*. 2014;71(1):11-23.
80. Anderson BJ. Paracetamol (Acetaminophen): mechanisms of action. *Paediatric anaesthesia*. 2008;18(10):915-21.
81. Trappe TA, Liu SZ. Effects of prostaglandins and COX-inhibiting drugs on skeletal muscle adaptations to exercise. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md : 1985)*. 2013;115(6):909-19.
82. Burd NA, Dickinson JM, Lemoine JK, Carroll CC, Sullivan BE, Haus JM, et al. Effect of a cyclooxygenase-2 inhibitor on postexercise muscle protein synthesis in humans. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism*. 2010;298(2):E354-61.
83. Gadek-Michalska A, Tadeusz J, Rachwalska P, Bugajski J. Cytokines, prostaglandins and nitric oxide in the regulation of stress-response systems. *Pharmacological reports : PR*. 2013;65(6):1655-62.
84. Mauger AR, Jones AM, Williams CA. Influence of acetaminophen on performance during time trial cycling. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md : 1985)*. 2010;108(1):98-104.

85. Li S, Dou W, Tang Y, Goorha S, Ballou LR, Blatteis CM. Acetaminophen: antipyretic or hypothermic in mice? In either case, PGHS-1b (COX-3) is irrelevant. *Prostaglandins & other lipid mediators*. 2008;85(3-4):89-99.
86. Botting R, Ayoub SS. COX-3 and the mechanism of action of paracetamol/acetaminophen. *Prostaglandins, leukotrienes, and essential fatty acids*. 2005;72(2):85-7.
87. Coombs GB, Cramer MN, Ravanelli NM, Morris NB, Jay O. Acute acetaminophen ingestion does not alter core temperature or sweating during exercise in hot-humid conditions. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*. 2015;25 Suppl 1:96-103.
88. Foster J, Taylor L, Christmas BC, Watkins SL, Mauger AR. The influence of acetaminophen on repeated sprint cycling performance. *European journal of applied physiology*. 2014;114(1):41-8.
89. Foster J, Mauger AR, Govus A, Hewson D, Taylor L. Acetaminophen (Paracetamol) Induces Hypothermia During Acute Cold Stress. *Clinical drug investigation*. 2017;37(11):1055-65.
90. Foster J, Mauger A, Thomasson K, White S, Taylor L. Effect of Acetaminophen Ingestion on Thermoregulation of Normothermic, Non-febrile Humans. *Frontiers in pharmacology*. 2016;7:54.
91. Bartscher M, Gatterer H, Philippe M, Krusmann P, Kernbeiss S, Frontull V, et al. Effects of a single low-dose acetaminophen on body temperature and running performance in the heat: a pilot project. *International journal of physiology, pathophysiology and pharmacology*. 2013;5(3):190-3.

CAPÍTULO II

Acute effect of paracetamol on body temperature, ammonia metabolism and performance in cyclists after exercise under thermoneutral conditions

Introduction

Strenuous exercise, which involves an increase in heat production arising from muscular activity and/or the environment (including thermoneutral conditions, termed as a low heat stress environment) can affect body temperature responses as well as promote muscle damage (1-3). Increases in body temperature due to a physical stress response are implicated in many metabolic modifications, including carbohydrate and protein catabolism, which may impact exercise performance, particularly under heat stress (4, 5).

It is known that protein catabolism may increase during exercise, mostly under consumption of a low-carbohydrate diet, and induce hyperammonaemia (6, 7). During exercise, blood ammonia can be produced in skeletal muscle through the breakdown of branched chain amino acid and deamination of adenosine monophosphate (AMP) (8). Ammonia is a toxic metabolite, and it has been postulated that exercise-induced hyperammonaemia may lead to concomitant disturbances in brain function, potentially via similar mechanisms underlying pathology, such as hepatic encephalopathy, which may affect physical and cognitive-motor performances, such as fatigue or reduced function (9). Furthermore, an increase in body temperature appears to exacerbate exercise-induced hyperammonaemia (10-12). It is believed that controlling the increase of ammonia will improve exercise performance (13).

Acetaminophen, also known as paracetamol (PCT), is a popular over-the-counter drug that is widely used as an antipyretic (for reducing body temperature) and analgesic (for pain relief) (14). PCT therapeutic doses are safe, but overdose causes hepatotoxicity (15, 16). The antipyretic properties of PCT have been demonstrated in febrile as well as non-febrile humans (17, 18). However, it has

been recently suggested that PCT can improve performance, mainly due to increased pain tolerance, and can improve exercise capacity (19-21). In addition, it has also been suggested that paracetamol can reduce body temperature under different environment conditions (18, 22, 23), although many studies have provided conflicting evidence (24).

Therefore, the role of PCT on body temperature during exercise is still poorly understood. The data available are limited and, to the best of our knowledge, there has been no study that has explored the acute effect of PCT (500 mg) on ammoniaemia during exercise. This information may be helpful in obtaining a better understanding of the effect of PCT on metabolism, cognitive-motor performance and markers of muscle damage following exercise.

We hypothesised that ingestion of PCT reduces body temperature, ammonia and improves cognitive-motor performance. Therefore, we evaluated the acute effect of PCT on body temperature, ammonia metabolism and performances in cyclists after exercise under thermoneutral conditions.

Methods

Subjects

Eight male endurance-trained cyclists (38.7 ± 14.6 years; 70.3 ± 5.5 kg; 170.6 ± 5.5 cm; 10.2 ± 4.3 %G), volunteered to participate in this randomised, double-blind, placebo controlled and crossover-study. All participants showed similar levels of maximal oxygen consumption ($\text{VO}_{2\text{max}}$) (49.5 ± 4.7 mL.kg⁻¹.min⁻¹); acclimatised to training in a hot environment; and routinely cycled at least 2 h/day, 4–7 days/week and have been competing for at least 3 years. Diseases or the use of ergogenic aids were adopted as exclusion criteria. The Ethics Committee for Human Research at the Federal University of Alagoas approved all of the procedures involving human subjects (nº protocol 1.899.684) that met the requirements regulating research on human subjects (Health National Council, Brazil). The nature of the study and the procedures involved were

described to all of the participants, and written informed consent was obtained from all of the athletes.

Experimental design

Participants visited the laboratory on three occasions. The athletes came to laboratory for a first visit and anthropometric variables and dietary intake were determined. All participants received an individualised diet plan as follows: 15% of the recommended energy intake was from protein, 25% of the recommended energy intake was from lipids and 65% of the recommended energy intake was from carbohydrates. After an assessment of dietary intake and familiarisation with the cycle ergometer, a maximum incremental test (MaxIT) was performed under the same thermal conditions as those of the experimental protocol (Wet Bulb Globe Temperature – WBGT ~ 22.5°C).

The MaxIT consisted of a 3-min warm-up with an initial power output of 25 W and free cadence. Immediately after warm-up, the power output was set to 80 W with a cadence of 80 rpm. The power output was increased to 30 W every 3 min until the subject reported voluntary exhaustion or the inability to maintain the pace established for more than 5 consecutive seconds. The $\text{VO}_{2\text{max}}$ was determined using an automatic gas analyser (Cosmed® Quark CPET's, Rome, Italy) and was calibrated before each test. Lactate threshold was determined based on the incremental test and blood lactate response. Every 3 min, a capillary puncture (ear lobe) was also performed for subsequent blood lactate analysis. $\text{VO}_{2\text{max}}$ was determined when two or more of the following criteria were met: an increase in the VO_2 of less than $2.1 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ on two consecutive stages, a respiratory exchange ratio greater than 1.1 and rated perceived exertion (RPE) values (25). The cyclists were also asked to avoid their normal training schedule until 24 h before the experimental protocol and to maintain a fluid intake of ~ 3 L.d⁻¹, avoiding the use of caffeine.

The participants returned to the laboratory on two further occasions (two weeks apart), for experimental protocol. On both occasions, one hour before the experimental protocol, the participants were orally supplemented with paracetamol (PCT; 500 mg) or a placebo control (PLA; equivalent quantity) with

~ 500 mL of water. Both administrations were provided as indistinguishable capsules.

After supplementation, cyclists were tested to evaluate their cognitive-motor performances using measures of immediate memory and motor coordination. Immediate memory was evaluated as described by McCrory et al.(26). A list of five words (one word per second) was given, and the athlete was asked to repeat as many words as possible in any order. The same list was repeated three times in ten-second intervals. Motor coordination was evaluated using the finger-to-nose test adapted from McCrory et al.(26). Briefly, while seated and facing the examiner (having their dominant arm laterally extended at a 90° angle in relation to the body and with their eyes open), the athletes were asked to touch the tip of their nose with their extended index finger and return to the initial position. They were asked to repeat this procedure as quickly and as accurately as possible five times. The cognitive tests were filmed for further analysis by five independent evaluators.

After the cognitive-motor performance tests, the hydration status was assessed by urine specific gravity (USG). USG was measured using urinalysis reagent tapes (Biocolor/Bioeasy®, Minas Gerais, Brazil). The hydration status was classified according to Casa et al.(27). In addition, analysis by qualitative reagent strips for urinalysis was used to confirm diet adherence by ketonuria. We considered the absence of ketonuria to be a positive test for adequate carbohydrate ingestion.

After cognitive-motor performance and hydration status tests, a catheter was placed in the median cubital vein and cyclists started a 30-min cycling session, following a power output from lactate threshold by heart rate (HR) determined during MaxIT. The HR was recorded throughout the exercise protocol using a heart rate monitor (Polar® S810i, Kempele, Finland). None of the athletes received fluids during the trial.

Blood samples were obtained at rest (0 min), at 30 min and after a new maximal progressive exercise (TE), without gas analysis. During TE, power output was set to 80 W with a cadence of 80 rpm, but the power output was increased at 25 W min⁻¹ until the subject reported voluntary exhaustion or the

inability to maintain the pace established for more than 5 s consecutive to obtain the exhaustion time (TE) and it was used to evaluate physical performance. Immediately after TE, new blood evaluations, cognitive-motor performance and hydration status tests were performed.

Blood samples were collected into the antecubital vein of the forearm and immediately transferred to tubes with and without EDTA. Tubes were centrifuged ($3000 \times g$ for 10 min), and the plasma and serum were then divided into aliquots and stored at 4 °C for further analyses. To avoid the loss of volatile compounds, plasma ammonia was immediately measured using a commercial spectrophotometric assay (Randox®, Crumlin, UK). Serum biochemical analyses of glucose, lactate, urea, urate, γ -glutamyltransferase (γ -GT), creatine kinase (CK), aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT) and lactate dehydrogenase (LDH) were measured using commercial spectrophotometric assays (Labtest®, Minas Gerais, Brazil) within a 24 h period. All blood samples were analysed in duplicate.

During the experimental protocol, WBGT index determination was based on ambient temperature, relative humidity, air movement and solar radiation (Instrutemp®, São Paulo, Brazil). WBGT up to $\sim 22^{\circ}\text{C}$ was considered a low heat stress environment. Body temperature was measured using a tympanic thermometer (GeniusTM 2®, Minnesota, USA). The tympanic temperature values were used to calculate an equivalent rectal temperature.

Statistical analyses

After normality test (Shapiro-Wilk) and equality test variance (Levene median), the changes in ambient temperature, body temperature, heart rate and the biochemistry between the time points were analysed using one-way ANOVA (treatments), and group changes were evaluated using two-way ANOVA (treatments \times time) for repeated measures. Tukey's test was used as a post hoc analysis.

We assumed that the body temperature at baseline corresponds to the resting body temperature level, and the AUC is the area under the curve, BT is body temperature ($^{\circ}\text{C}$) and T is time (min).

Physical and cognitive-motor performances and markers of hydration status were analysed by unpaired and/or paired Student's *t*-test. When the sample showed a non-normal distribution, nonparametric tests were used. For all of the measurement differences, $p < 0.05$ was considered to be statistically significant. The data were expressed as the mean \pm SE.

Results

We used 30-min session cycling sessions followed by a maximum incremental test to drive the athletes to exhaustion (TE) and to evaluate the acute effect of PCT supplementation on body temperature, ammonia production and performances. Importantly, athletes did not suffer from any adverse effects from PCT ingestion. Ketonuria analysis revealed that no subjects were under ketosis before the cycling session. The USG pre-exercise revealed that both groups demonstrated a similar state of hydration (1010 ± 3.7 and 1015 ± 3.7 ; PLA and PCT, respectively). WBGT revealed that both groups performed the study under low heat stress ($\sim 22.4 \pm 0.05^\circ\text{C}$) (Fig. 1A).

The workload used during the 30-min cycling session, with the HR of anaerobic threshold obtained as 164 ± 8.1 beats/min, reached similar effort intensity in both groups (Fig. 1B). The PLA body temperature started with $36.3 \pm 0.06^\circ\text{C}$ and increased significantly for $37.5 \pm 0.17^\circ\text{C}$ and $37.4 \pm 0.13^\circ\text{C}$ in the time points of 30 min and TE, respectively. The PCT group did not change their body temperature between the time point of 0 ($36.3 \pm 0.08^\circ\text{C}$) and 30 min ($36.8 \pm 0.42^\circ\text{C}$), reaching a temperature of $37.3 \pm 0.19^\circ\text{C}$ in TE ($P = 0.053$) (Fig. 1C). However, no difference was observed between groups. Furthermore, the AUC showed that there was a reduction of 0.99% in body temperature, and between the mean values at 30 min there was a reduction of 1.8%.

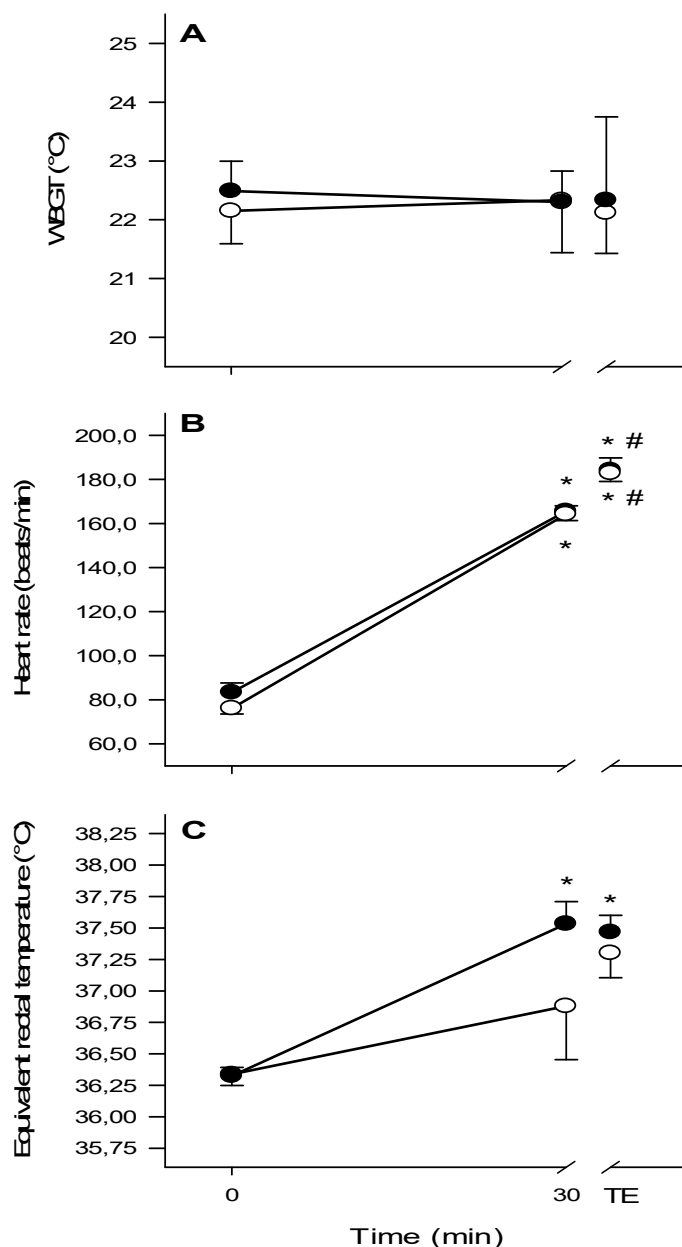


Figure 1. Environmental conditions (WBGT), heart rate and body temperature were similar throughout the experimental protocol. Athletes exercised for 30 min followed by a maximum incremental test to drive the athletes to reported voluntary exhaustion (TE), after PCT supplementation (experimental group - PCT, ○) or control supplementation (PLA, ●). Values are expressed as the mean and SE. (A) WBGT: resting values were PCT 22.1 ± 0.5 °C and PLA 22.4 ± 0.5 °C; (B) Heart rate: resting values were PCT 76.1 ± 2.5 beats/min and PLA 83.3 ± 4.2 beats/min; (C) Equivalent rectal temperature: resting values were PCT 36.3 ± 0.08 °C and PLA: 36.3 ± 0.06 °C. TE: means values were PCT 11:41 min and PLA 11:35 min. * Mean values were significantly different from 0 min

within the group. # Mean values were significantly different from 30 min within the group ($P < 0.05$).

To investigate the effect of PCT on metabolism, we evaluated some target metabolites. The blood ammonia concentrations increased with exercise in both groups, but there were no significant differences between the groups (Fig. 2A). The blood urea concentrations may reflect the total ammonia excretion produced by amino acid deamination, and the blood urate appearance in the blood was correlated to IMP production, which is the final product of purine catabolism. Therefore, these concentrations were measured, but there was no statistical difference in blood urea (Fig. 2B) or urate (Fig. 2C).

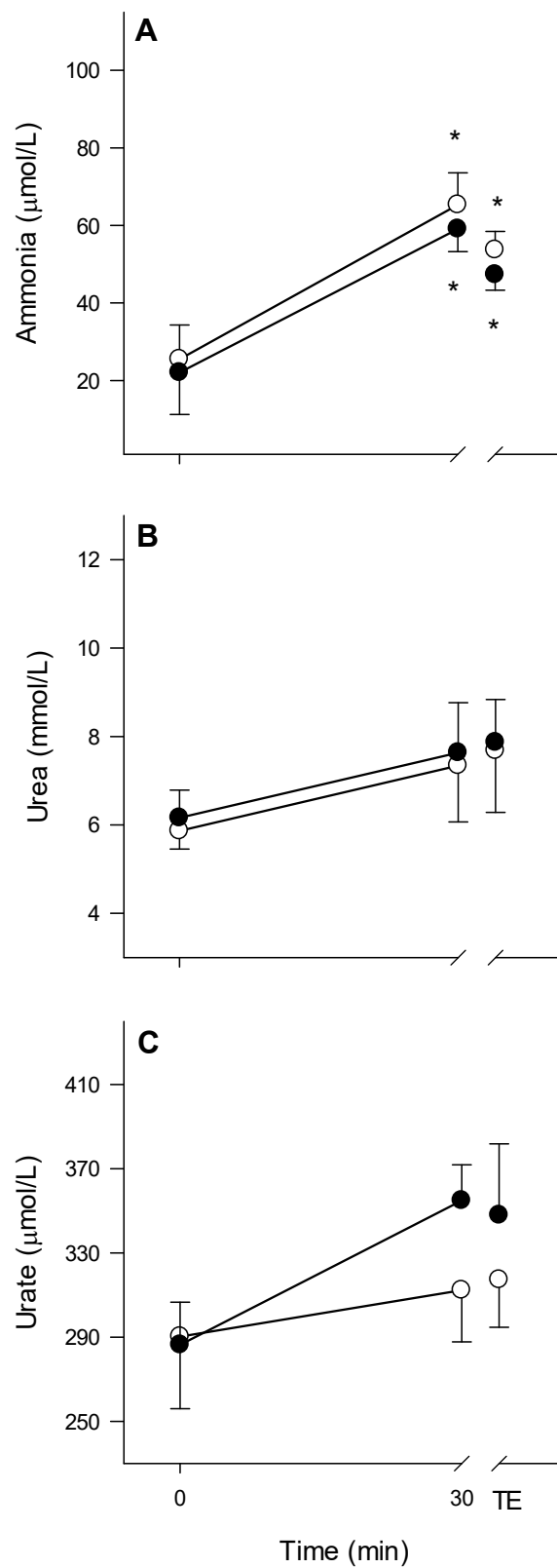


Figure 2. Blood ammonia, urea and urate concentrations were similar throughout the experimental protocol. Athletes exercised for 30 min followed by

a maximum incremental test to drive the athletes to reported voluntary exhaustion (TE), after PCT supplementation (experimental group - PCT, ○) or control supplementation (PLA, ●). Values are expressed as the mean and SE. (A) Blood ammonia concentrations: resting values were PCT 22.4 ± 8.8 $\mu\text{mol/L}$ and PLA 22 ± 10.7 $\mu\text{mol/L}$; (B) Blood urea concentrations: resting values were PCT 5.8 ± 0.4 mmol/L and PLA 6.1 ± 0.6 mmol/L ; (C) Blood urate concentrations: resting values were PCT 290.2 ± 34.2 $\mu\text{mol/L}$ and PLA 286.3 ± 20.2 $\mu\text{mol/L}$. TE: mean values were PCT 11:41 min and PLA 11:35 min. * Mean values were significantly different from 0 min within the group ($P < 0.05$).

To understand the role of PCT in gluconeogenesis, we measured glycaemia and lactatemia during cycle session and TE. There was no significant difference in blood glucose concentrations in both groups (Fig. 3A). Lactate is an indicator of consistent glucose metabolism during exercise and it is well known that lactate blood levels increase according to exercise intensity. No difference in blood concentrations was observed between groups. However, there was a significant increase at the TE in both groups compared with all exercise time points (Fig. 3B).

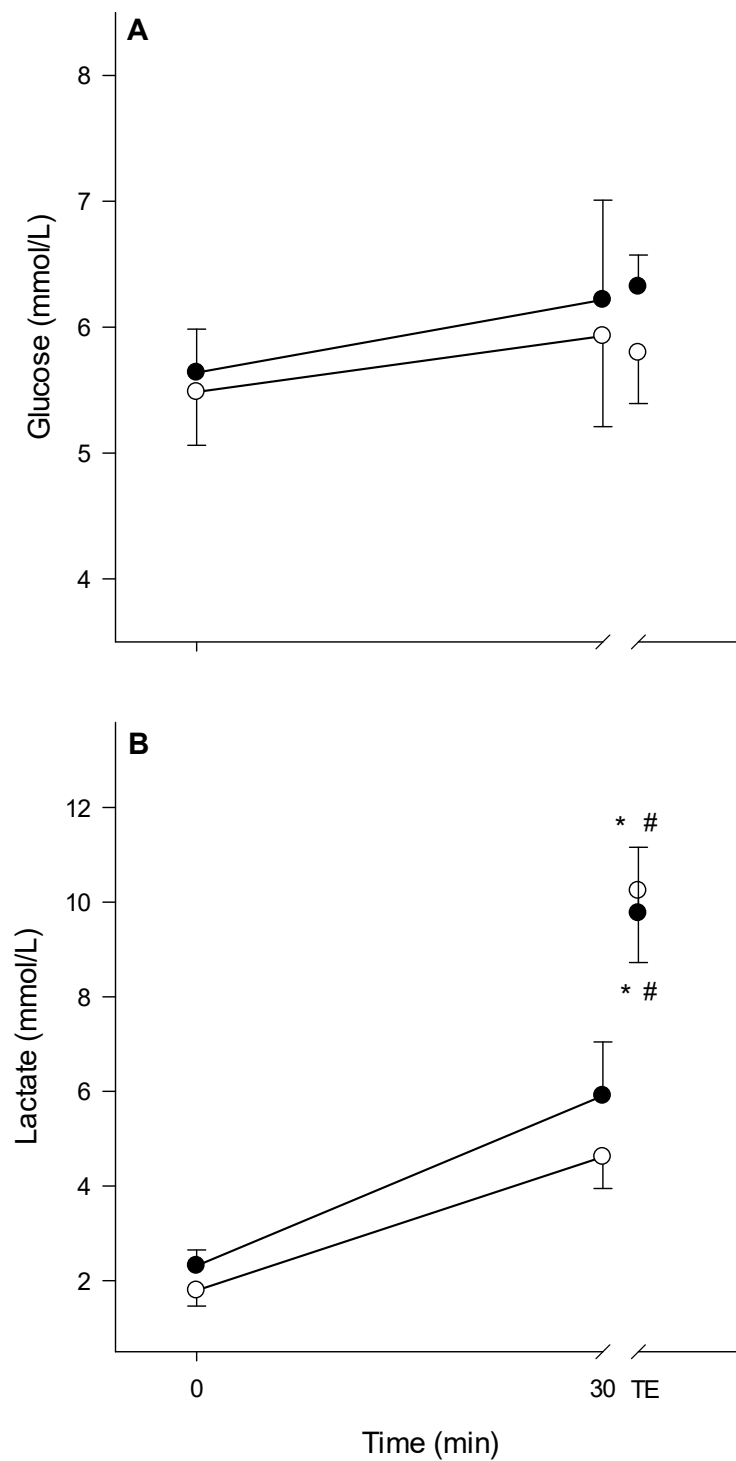


Figure 3. Blood glucose and lactate concentrations were similar throughout the experimental protocol. Athletes exercised for 30 min followed by a maximum incremental test to drive the athletes to reported voluntary exhaustion (TE), after PCT supplementation (experimental group - PCT, ○) or control supplementation (PLA, ●). Values are expressed as the mean and SE. (A) Blood glucose concentrations: resting values were PCT 5.4 ± 0.4 mmol/L and PLA 5.6

± 0.3 mmol/L; (B) Blood lactate concentrations: resting values were PCT 1.7 ± 0.3 mmol/L and PLA 2.3 ± 0.3 mmol/L. TE: mean values were PCT 11:41 min and PLA 11:35 min. * Mean values were significantly different from 0 min within the group. # Mean values were significantly different from 30 min within the group ($P < 0.05$).

To understand the role of PCT in the expression of classical muscle injury biomarkers, we measured ALT, AST, CK and LDH levels. Compared to basal levels, CK, LDH, AST and ALT levels did not change throughout the trial (Fig. 4A, 4B, 4C and 4d, respectively) and there were no significant differences between groups. In addition, γ -GT levels were assessed because of their essential diagnostic roles in liver metabolism, but no significant difference was observed in either group (Fig. 5).

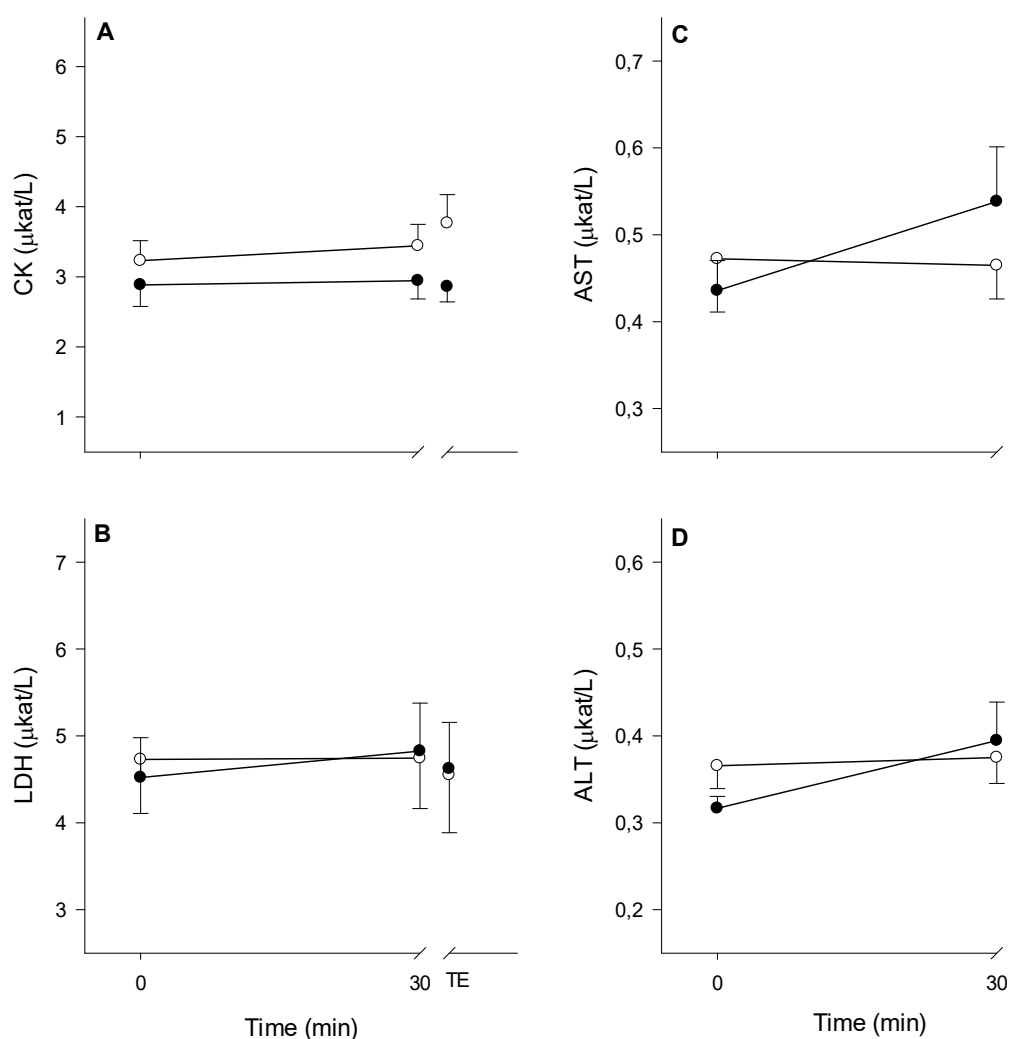


Figure 4. Blood CK, LDH, AST, ALT concentrations were similar throughout the experimental protocol. Athletes exercised for 30 min followed by a maximum incremental test to drive the athletes to reported voluntary exhaustion (TE), after PCT supplementation (experimental group - PCT, ○) or control supplementation (PLA, ●). Values are expressed as the mean and SE. (A) Blood CK concentrations: resting values were PCT $3.2 \pm 0.2 \mu\text{Kat/L}$ and PLA $2.8 \pm 0.3 \mu\text{Kat/L}$; (B) Blood LDH concentrations: resting values were PCT $4.7 \pm 0.6 \mu\text{Kat/L}$ and PLA $4.5 \pm 0.4 \mu\text{Kat/L}$; (C) Blood AST concentrations: resting values were PCT $0.4 \pm 0.06 \mu\text{Kat/L}$ and PLA $0.4 \pm 0.03 \mu\text{Kat/L}$; (D) Blood ALT concentrations: resting values were PCT $0.3 \pm 0.02 \mu\text{Kat/L}$ and PLA $0.3 \pm 0.01 \mu\text{Kat/L}$. TE: means values were PCT 11:41 min and PLA 11:35 min. * Mean values were significantly

different from 0 min within the group. # Mean values were significantly different from 30 min within the group ($P < 0.05$).

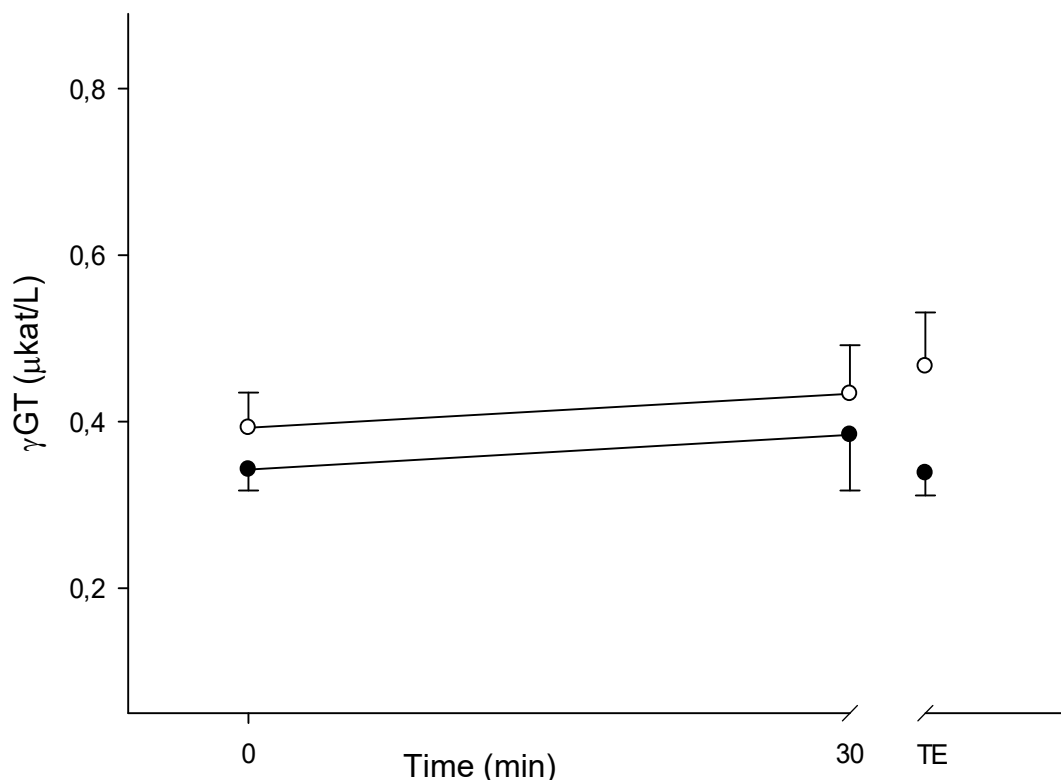


Figure 5. Blood γ -GT concentrations were similar throughout the experimental protocol. Athletes exercised for 30 min followed by a maximum incremental test to drive the athletes to reported voluntary exhaustion (TE), after PCT supplementation (experimental group - PCT, \circ) or control supplementation (PLA, \bullet). Values are expressed as the mean and SE. Blood γ -GT concentrations: resting values were PCT 0.3 ± 0.04 μ Kat/L and PLA 0.3 ± 0.02 μ Kat/L. TE: mean values were PCT 11:41 min and PLA 11:35 min. * Mean values were significantly different from 0 min within the group. # Mean values were significantly different from 30 min within the group ($P < 0.05$).

After the 30-min cycling session, TE was employed to evaluate the participants' physical performance in both groups, but no difference was observed between PCT and PLA (11.68 ± 0.67 min versus 11.58 ± 0.64 min,

respectively). In addition, we were unable to measure any significant difference in cognitive-motor performances. There was no significant difference in the Pre (PCT 1.0 ± 0 and PLA 0.87 ± 0) and Post (PCT 1.0 ± 0 and PLA 1.0 ± 0) time points in motor coordination between groups. In addition, the immediate memory tests showed no changes between the Pre (PCT 14.5 ± 1.0 and PLA 14.6 ± 0.6) and Post (PCT 15.0 and PLA 14.6 ± 0.5) time points.

Discussion

This study investigated the acute effect of PCT on body temperature, ammonia metabolism and performances in cyclists subjected to exercise under thermoneutral conditions. Here we showed that PCT affects the increase in body temperature during exercise under thermoneutral conditions. However, we were unable to measure any significant body temperature-induced difference in ammonia metabolism, physical and/or cognitive-motor performances and markers of muscle and/or liver damage under these conditions.

Although PCT has been described as having an analgesic property (19, 20), here we focused our analysis solely on its antipyretic activity. It is known that antipyretics, such as PCT, are drugs that decrease fever (a pathological elevation of normal body temperature) (28), but its mechanism of action is complex, and its action has not been completely understood (29). It has also been postulated that antipyretics decrease body temperature in the absence of fever, such as over a range of environmental temperatures or physiological activities that might oppose or contribute to the drug-induced temperature change, such as exercise (30). Body temperature may also be increased without pathological causes, such as during exercise or hyperthermia resulting from excessive exposure to heat (28). It has been suggested that submaximal endurance exercise can induce an increase in mean body temperature in humans (31).

Recently, it has been demonstrated that acute oral PCT ingestion at a dose of 20 mg/kg lean body mass reduces non-febrile body temperature during a 120-min passive exposure to sub-neutral environments (20 °C and 40% RH) (18). In both febrile and non-febrile conditions, it has been suggested that the antipyretic effect of PCT results from its inhibitory actions of different

cyclooxygenase (COX) isozymes (specifically COX-1 and -2), which is responsible for the synthesis of prostaglandins (PGs), such as E2 (PGE2) generation within the central nervous system, that play central roles in fever (14, 32). In the present study, acute oral PCT ingestion at a dose of 500 mg delayed the increase in body temperature during prolonged exercise (at 30 min) and high-intensity exercise (at TE) under thermoneutral conditions.

The adverse effects of elevated body temperature on metabolism have been described, and it is recognised that high body temperature during exercise can induce increases in metabolic system response, such as blood ammonia and, most likely, its metabolites (12, 33). Although exercise-induced hyperammonaemia is independent of body temperature (9), previous studies have suggested that high body temperature during exercise contributes to exacerbated exercise-induced hyperammonaemia, particularly under high heat stress (5, 10). In this study, although blood ammonia increased in response to exercise in both groups, no significant differences were found between the groups. Furthermore, we showed no changes in blood urea and urate due exercise and between groups.

In addition, it has been proposed that elevated body temperature can promote high-energy demand and carbohydrate catabolism (5), including muscle damage (34), particularly in heat. In the present study, under a thermoneutral environment, we were unable to measure any significant difference between the groups in blood glucose, lactate and markers of muscle damage, although blood lactate increased in response to exercise in both groups. It is also possible to postulate that PCT, in athletes who are acclimated to exercise in the heat, under thermoneutral conditions, do not induce decreased body temperature sufficient to decrease blood ammonia and/or others metabolites and markers of muscle damage. However, this hypothesis needs to be further studied.

Likewise, it has been recognised that elevated body temperature can induce central nervous system dysfunction, to promote hyperammonaemia and impair physical and cognitive-motor performance (12, 35). In this study, the subjects were under low thermal stress caused by controlled laboratory conditions, where it was maintained at a WBGT of ~ 22 °C and equivalent rectal temperatures of between 36-37 °C. There were no changes in either physical or

cognitive-motor performance in both groups, although PCT decreased body temperature. Butsher et al. (2013) demonstrated, with the same PCT dosage (500 mg) after 20 minutes of running in heat, that performance was unaffected. However, Mauger et al. (2014) suggested that the analgesic properties of PCT (20 mg/kg) were likely a contributing factor to the improved time to exhaustion in heat.

It is possible to postulate that the controlled thermoneutral environmental conditions at the laboratory prevented the negative effect to central nervous system dysfunction and performance. This negative effect appears to be dependent on the environmental conditions under which the exercise is performed, such as high ambient temperature and humidity, which are sufficient when body temperature reaches or exceeds 40 °C (36, 37).

Conclusion

To the best of our knowledge, this study is the first investigation to evaluate the acute effect of PCT on ammonia metabolism, markers of muscle and liver damage and physical and cognitive-motor performances in cyclists after exercise under low heat stress conditions. Our data suggest that PCT (500 mg) results in decreased body temperature after exercise. However, it had no effect on cognitive-motor performance and markers of muscle and liver damage.

References

1. Epstein Y, Roberts WO. The pathophysiology of heat stroke: an integrative view of the final common pathway. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*. 2011;21(6):742-8.
2. Brotherhood JR. Heat stress and strain in exercise and sport. *Journal of science and medicine in sport*. 2008;11(1):6-19.
3. Martinez-Sanchez A, Alacid F, Rubio-Arias JA, Fernandez-Lobato B, Ramos-Campo DJ, Aguayo E. Consumption of Watermelon Juice Enriched in L-Citrulline and Pomegranate Ellagitannins Enhanced Metabolism during Physical Exercise. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2017;65(22):4395-404.
4. Febbraio MA, Carey MF, Snow RJ, Stathis CG, Hargreaves M. Influence of elevated muscle temperature on metabolism during intense, dynamic exercise. *The American journal of physiology*. 1996;271(5 Pt 2):R1251-5.
5. Febbraio MA. Alterations in energy metabolism during exercise and heat stress. *Sports medicine (Auckland, NZ)*. 2001;31(1):47-59.
6. Camerino SR, Lima RC, Franca TC, Herculano Ede A, Rodrigues DS, Gouveia MG, et al. Keto analogue and amino acid supplementation and its effects on ammoniaemia and performance under thermoneutral conditions. *Food & function*. 2016;7(2):872-80.
7. Prado ES, de Rezende Neto JM, de Almeida RD, Doria de Melo MG, Cameron LC. Keto analogue and amino acid supplementation affects the ammoniaemia response during exercise under ketogenic conditions. *The British journal of nutrition*. 2011;105(12):1729-33.
8. Banister EW, Cameron BJ. Exercise-induced hyperammonemia: peripheral and central effects. *International journal of sports medicine*. 1990;11 Suppl 2:S129-42.
9. Wilkinson DJ, Smeeton NJ, Watt PW. Ammonia metabolism, the brain and fatigue; revisiting the link. *Progress in neurobiology*. 2010;91(3):200-19.
10. Linnane DM, Bracken RM, Brooks S, Cox VM, Ball D. Effects of hyperthermia on the metabolic responses to repeated high-intensity exercise. *European journal of applied physiology*. 2004;93(1-2):159-66.
11. Mohr M, Rasmussen P, Drust B, Nielsen B, Nybo L. Environmental heat stress, hyperammonemia and nucleotide metabolism during intermittent exercise. *European journal of applied physiology*. 2006;97(1):89-95.

12. Nybo L. CNS fatigue provoked by prolonged exercise in the heat. *Frontiers in bioscience (Elite edition)*. 2010;2:779-92.
13. Nybo L, Dalsgaard MK, Steensberg A, Moller K, Secher NH. Cerebral ammonia uptake and accumulation during prolonged exercise in humans. *The Journal of physiology*. 2005;563(Pt 1):285-90.
14. Aronoff DM, Oates JA, Boutaud O. New insights into the mechanism of action of acetaminophen: Its clinical pharmacologic characteristics reflect its inhibition of the two prostaglandin H2 synthases. *Clinical pharmacology and therapeutics*. 2006;79(1):9-19.
15. McGill MR, Jaeschke H. Metabolism and disposition of acetaminophen: recent advances in relation to hepatotoxicity and diagnosis. *Pharmaceutical research*. 2013;30(9):2174-87.
16. Magno-Franca A BA, Bessa AO, Nissenbaum M, Vaz de Macedo D, Cameron LC. A sportomic follow-up of a muscle injury succeeded by acetaminophen hepatotoxicity. *OA sports Medicine*. 2013;01:8.
17. Clark RA, Holdsworth CD, Rees MR, Howlett PJ. The effect on paracetamol absorption of stimulation and blockade of beta-adrenoceptors. *British journal of clinical pharmacology*. 1980;10(6):555-9.
18. Foster J, Mauger AR, Govus A, Hewson D, Taylor L. Acetaminophen (Paracetamol) Induces Hypothermia During Acute Cold Stress. *Clinical drug investigation*. 2017;37(11):1055-65.
19. Mauger AR, Jones AM, Williams CA. Influence of acetaminophen on performance during time trial cycling. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md : 1985)*. 2010;108(1):98-104.
20. Mauger AR, Hopker JG. The effect of acetaminophen ingestion on cortico-spinal excitability. *Canadian journal of physiology and pharmacology*. 2013;91(2):187-9.
21. Holgado D, Hopker J, Sanabria D, Zabala M. Analgesics and Sport Performance: Beyond the Pain-Modulating Effects. *PM & R : the journal of injury, function, and rehabilitation*. 2017.
22. Burtcher M, Gatterer H, Philippe M, Krusmann P, Kernbeiss S, Frontull V, et al. Effects of a single low-dose acetaminophen on body temperature and running performance in the heat: a pilot project. *International journal of physiology, pathophysiology and pharmacology*. 2013;5(3):190-3.
23. Mauger AR, Taylor L, Harding C, Wright B, Foster J, Castle PC. Acute acetaminophen (paracetamol) ingestion improves time to exhaustion during exercise in the heat. *Experimental physiology*. 2014;99(1):164-71.
24. Coombs GB, Cramer MN, Ravanelli NM, Morris NB, Jay O. Acute acetaminophen ingestion does not alter core temperature or sweating during

exercise in hot-humid conditions. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*. 2015;25 Suppl 1:96-103.

25. Borg GA. Psychophysical bases of perceived exertion. *Medicine and science in sports and exercise*. 1982;14(5):377-81.

26. McCrory P, Meeuwisse WH, Aubry M, Cantu B, Dvorak J, Echemendia RJ, et al. Consensus statement on concussion in sport: the 4th International Conference on Concussion in Sport held in Zurich, November 2012. *British journal of sports medicine*. 2013;47(5):250-8.

27. Casa DJ, Armstrong LE, Hillman SK, Montain SJ, Reiff RV, Rich BS, et al. National athletic trainers' association position statement: fluid replacement for athletes. *Journal of athletic training*. 2000;35(2):212-24.

28. Van Arman CG, Armstrong DA, Kim DH. Antipyretics. *Pharmacology & therapeutics*. 1985;29(1):1-48.

29. Jozwiak-Bebenista M, Nowak JZ. Paracetamol: mechanism of action, applications and safety concern. *Acta poloniae pharmaceutica*. 2014;71(1):11-23.

30. Clark WG. Changes in body temperature after administration of antipyretics, LSD, delta 9-THC and related agents: II. *Neuroscience and biobehavioral reviews*. 1987;11(1):35-96.

31. Bradford CD, Cotter JD, Thorburn MS, Walker RJ, Gerrard DF. Exercise can be pyrogenic in humans. *American journal of physiology Regulatory, integrative and comparative physiology*. 2007;292(1):R143-9.

32. Hinz B, Brune K. Paracetamol and cyclooxygenase inhibition: is there a cause for concern? *Annals of the rheumatic diseases*. 2012;71(1):20-5.

33. Nybo L, Nielsen B. Hyperthermia and central fatigue during prolonged exercise in humans. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md : 1985)*. 2001;91(3):1055-60.

34. Nybo L, Girard O, Mohr M, Knez W, Voss S, Racinais S. Markers of muscle damage and performance recovery after exercise in the heat. *Medicine and science in sports and exercise*. 2013;45(5):860-8.

35. Sharma P, Sharma BC, Puri V, Sarin SK. Critical flicker frequency: diagnostic tool for minimal hepatic encephalopathy. *Journal of hepatology*. 2007;47(1):67-73.

36. Walters TJ, Ryan KL, Tate LM, Mason PA. Exercise in the heat is limited by a critical internal temperature. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md : 1985)*. 2000;89(2):799-806.

37. Brisswalter J, Collardeau M, Rene A. Effects of acute physical exercise characteristics on cognitive performance. *Sports medicine (Auckland, NZ)*. 2002;32(9):555-66.

APÊNDICE A – Termo de consentimento livre e esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Eu, _____, tendo sido convidado a participar como voluntário do estudo “**O EFEITO AGUDO DO PARACETAMOL NA TEMPERATURA CORPORAL, AMONEMIA E DESEMPENHO DURANTE EXERCÍCIO EM AMBIENTE TERMONEUTRO.**”, recebi do Sr. PROFESSOR DOUTOR EDUARDO SEIXAS PRADO, do DEPARTAMENTO DE EDUCAÇÃO FÍSICA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS, responsável por sua execução, as seguintes informações que me fizeram entender sem dificuldades e sem dúvidas os seguintes aspectos:

- Que atletas considerados de menor (idade inferior a 18 anos), terão que apresentar uma autorização dos pais ou responsáveis para participação na pesquisa (TCLE específico) e anuência do menor através do Termo de Assentimento Livre e Esclarecido (TALE).
- Que o estudo se destina a obter dados experimentais para avaliação do desempenho físico e cognitivo-motor, do metabolismo e da atividade cardíaca de atletas alagoanos e sergipanos de diferentes modalidades esportivas (corredores e ciclistas de longa distância), através de procedimentos metabólicos, supervisionada por profissionais capacitados.
- Que a importância deste estudo é demonstrar sua contribuição social, no sentido de melhorar o desempenho na prática esportiva de atletas locais/regionais, esclarecendo seu estado nutricional e metabólico e ao mesmo tempo, oferecendo oportunidade para uma melhor orientação em como se alimentar e hidratar, no sentido dos atletas se cuidarem mais eficientemente, beneficiando seu desempenho em ambiente quente.
- Que os resultados que se desejam alcançar são os seguintes: supomos que haja uma melhora do metabolismo, especialmente devido à redução da hiperamonemia, e da temperatura corporal, quando os atletas estiverem expostos ao exercício em um ambiente mais quente, com o uso dos recursos farmacológicos lícitos e antitérmicos. Inclusive, nestas condições, o desempenho físico e cognitivo-motor também deverão ser melhorados.
- Que esse estudo começará no segundo trimestre (em junho) de 2017 e terminará no segundo trimestre (em agosto) de 2017.
- Que o estudo será feito da seguinte maneira: ciclistas do sexo masculino, treinados, aclimatados ao treinamento em um ambiente quente, serão levados pedalar, em 3 ocasiões separadas. Cada ocasião será tratada com uso de paracetamol (500 mg). Durante a intervenção, os atletas serão levados a realizar um teste com exercício em uma câmara ambiental com 25° C. Em todas as ocasiões, antes, durante e após o teste com exercício, as seguintes variáveis serão coletadas: bioquímica (sangue será coletado para análise metabólica, incluindo espectrometria de massa); temperatura central do corpo; estado de

hidratação; variabilidade da frequência cardíaca; índice de estresse térmico e desempenho físico e cognitivo-motor.

- Que eu participarei das etapas do estudo de acordo como minha especialidade e critérios de inclusão previamente estabelecidos.

- Que os incômodos e riscos que poderei sentir com a minha participação são os seguintes: talvez, algum desconforto possa ocorrer nos atletas na execução da coleta sanguínea (que será feita na veia, com material esterilizado e descartável) e na realização de exercícios físicos no calor. Caso isto ocorra, o voluntário será assistido por profissional competente e os pesquisadores no mesmo local, podendo desistir do estudo. A coleta de sangue poderá resultar em um pequeno hematoma no local (mancha roxa e dolorosa), contudo todos os cuidados serão tomados para que isto não ocorra.

- Que os possíveis incômodos e riscos à minha saúde física e mental (inibição/constrangimento diante de um observador, quebra de sigilo da pesquisa, risco de lesão, queda, etc) serão mínimos para os envolvidos (voluntários e pesquisadores), seja como consequência imediata ou tardia da participação na pesquisa.

- Que deverei contar com a seguinte assistência: de todos os pesquisadores, sendo responsável(is) por ela: Professora Thaysa Passos Nery Chagas, residente na Rua Manuel Espinheira Fonseca, 488, Aruanda, Aracaju, SE, tel: 79 99927-3040 e o Professor Dr. Eduardo Seixas Prado, residente na Rua José Soares Sobrinho, 136, Jatiúca, Maceió, AL, tel: 079 99988-3043.

- Que os benefícios que deverei esperar com a minha participação, mesmo que não diretamente são: receber adequada orientação nutricional e metabólica, para melhorar a prescrição do treinamento, estratégias de competição, análise da recuperação, acompanhamento de reabilitação, e desempenho físico e cognitivo-motor, especialmente em ambiente quente; a partir da parceria criada entre a equipe multidisciplinar capacitada e as federações participantes desse projeto.

- Que a minha participação será acompanhada do seguinte modo: haverá acompanhamento integral de alunos, pesquisadores e colaboradores capacitados no momento do experimento.

- Que, sempre que desejar serão fornecidos esclarecimentos sobre cada uma das etapas do estudo.

- Que, a qualquer momento, eu poderei recusar a continuar participando do estudo e, também, que eu poderei retirar este meu consentimento, sem que isso me traga qualquer penalidade ou prejuízo.

- Que as informações conseguidas através da minha participação não permitirão a identificação da minha pessoa, exceto aos responsáveis pelo estudo, e que a divulgação das mencionadas informações só será feita entre os profissionais estudiosos do assunto.

- Que eu não terei despesas com a minha participação nesse estudo.

- Que eu receberei uma via assinada, pelo pesquisador responsável, deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Finalmente, tendo eu compreendido perfeitamente tudo o que me foi informado sobre a minha participação no mencionado estudo e estando consciente dos meus direitos, das minhas responsabilidades, dos riscos e dos benefícios que a minha participação implicam, concordo em dele participar e para isso eu DOU O MEU CONSENTIMENTO SEM QUE PARA ISSO EU TENHA SIDO FORÇADO OU OBRIGADO.

Endereço do participante-voluntário

Domicílio: (rua, praça, conjunto):

Bloco: /Nº: /Complemento:

Bairro: /CEP/Cidade: /Telefone:

Ponto de referência:

Contato de urgência: Sr(a).

Domicílio: (rua, praça, conjunto):

Bloco: /Nº: /Complemento:

Bairro: /CEP/Cidade: /Telefone:

Ponto de referência:

Aracaju, ____ de _____ de 20__.

Assinatura do voluntário_____
Assinatura do responsável pelo estudo

APÊNDICE B – Termo de consentimento livre e esclarecido para menores de 18 anos.

TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TALE)

(Anuência do participante da pesquisa, criança, adolescente ou legalmente incapaz).

Você está sendo convidado como voluntário a participar da pesquisa **“O EFEITO AGUDO DO PARACETAMOL NA TEMPERATURA CORPORAL, AMONEMIA, E DESEMPENHO DURANTE EXERCÍCIO EM AMBIENTE TERMONEUTRO”**. Nesta pesquisa pretendemos obter dados experimentais para avaliação do desempenho físico e cognitivo-motor, do metabolismo e da atividade cardíaca de atletas sergipanos de diferentes modalidades esportivas (corredores e ciclistas de longa distância), através de procedimentos metabólicos, supervisionada por profissionais capacitados.

O motivo que nos leva a estudar esse assunto é promover a melhora do desempenho na prática esportiva de atletas locais/regionais, esclarecendo seu estado nutricional e metabólico e ao mesmo tempo, oferecendo oportunidade para uma melhor orientação em como se alimentar e hidratar, no sentido dos atletas se cuidarem mais eficientemente, beneficiando seu desempenho em ambiente quente.

Para esta pesquisa adotaremos os seguintes procedimentos: ciclistas do sexo masculino, treinados em provas longas (atletas), acostumados a treinar em locais com calor, serão levados a pedalar, em 3 ocasiões em momentos diferentes. Cada ocasião será tratada com uma diferente intervenção, assim descrita: paracetamol (com dose de 500 mg). Durante a intervenção com paracetamol, os atletas serão levados a realizar um teste com exercício em locais fechados com temperaturas de 25 °C. Em todas as ocasiões, antes, durante e após o teste com exercício, serão coletados e/ou avaliados de cada atleta: sangue, para análise metabólica; temperatura do corpo; estado de hidratação; frequência cardíaca; índice de estresse ao calor; e o desempenho físico e cognitivo-motor.

Para participar desta pesquisa, o responsável por você deverá autorizar e assinar um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Você não terá nenhum custo, nem receberá qualquer pagamento. Você será esclarecido em qualquer aspecto que desejar e estará livre para participar ou recusar-se. O responsável por você poderá retirar o consentimento ou interromper a sua participação a qualquer momento. A sua participação é voluntária e a recusa em participar não acarretará qualquer penalidade ou modificação na forma em que é atendido pelo pesquisador que irá tratar a sua identidade com padrões profissionais de sigilo. Você não será identificado em nenhuma publicação.

Os incômodos e riscos envolvidos na pesquisa consistem em, talvez, sentir algum desconforto na coleta sanguínea (que será feita na veia, com material esterilizado e descartável) e na realização de exercícios físicos no calor. Caso isto ocorra, o voluntário será assistido por profissional competente e os pesquisadores no mesmo local, podendo desistir do estudo. A coleta de sangue poderá resultar em um pequeno hematoma no local (mancha roxa e dolorosa), contudo todos os cuidados serão tomados para que isto não ocorra. Esses possíveis incômodos e riscos à saúde física e mental (inibição/constrangimento diante de um observador, quebra de sigilo da pesquisa, risco de lesão, queda, etc) serão mínimos para os envolvidos (voluntários e pesquisadores), seja como consequência imediata ou tardia da participação na pesquisa.

A pesquisa contribuirá para uma adequada orientação nutricional e metabólica, melhorando assim a prescrição do treinamento, estratégias de competição, análise da recuperação, acompanhamento de reabilitação, e desempenho físico e cognitivo-motor, especialmente em ambiente quente; a partir da parceria criada entre a equipe multidisciplinar capacitada e as federações participantes desse projeto.

Os resultados estarão à sua disposição quando finalizada. Seu nome ou o material que indique sua participação não será liberado sem a permissão do responsável por você. Os dados e instrumentos utilizados na pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador responsável por um período de 5 anos, e após esse tempo serão destruídos. Este termo de consentimento encontra-se impresso e assinado em duas vias originais: sendo que uma será arquivada pelo pesquisador responsável, e a outra será fornecida a você. Os pesquisadores tratarão a sua identidade com padrões profissionais de sigilo, atendendo a legislação brasileira (Resolução Nº 466/12 do Conselho Nacional de Saúde), utilizando as informações somente para os fins acadêmicos e científicos.

Eu _____, fui informado dos objetivos da presente pesquisa, de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações, e o meu responsável poderá modificar a decisão de participar se assim o desejar. Tendo o consentimento do meu responsável já assinado, declaro que concordo em participar dessa pesquisa. Recebi o termo de assentimento e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

Aracaju, ____ de _____ de 20 ____.

Assinatura do menor

Assinatura do pesquisado responsável

Em caso de dúvidas com respeito aos aspectos éticos desta pesquisa, você poderá consultar:

Nome do Pesquisador Responsável:

Professor Dr. Eduardo Seixas Prado, residente na Rua José Soares Sobrinho, 136, Jatiúca, Maceió, AL, tel: 079 99988-3043. Email: esprado@cedu.ufal.br ou eduseipra@gmail.com.

